



Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas

**PREVALENCIA E IMPACTO DE LA VIREMIA DE BAJO GRADO  
EN LA PROGRESIÓN CLÍNICA DE LOS PACIENTES  
INFECTADOS POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA  
HUMANA QUE RECIBEN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL**

Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Medicina  
por la Universidad Miguel Hernández

Realizada por

**D. José Miguel Gómez Verdú**

Director de la Tesis

**Prof. Dr. D. Félix Gutiérrez Rodero**

Codirector de la Tesis

**Dr. D. Enrique Bernal Morell**

**San Juan de Alicante, 2020**



D. Vicente Francisco Gil Guillén, Coordinador del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

AUTORIZA:

La presentación y defensa como tesis doctoral del trabajo “Prevalencia e impacto de la viremia de bajo grado en la progresión clínica de los pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana que reciben tratamiento antirretroviral” realizado por D. José Miguel Gómez Verdú bajo la dirección del Dr. D. Félix Gutiérrez Roderó y la co-dirección del Dr. D. Enrique Bernal Morell. De acuerdo a la información recibida sobre las evaluaciones previas realizadas en cumplimiento de la normativa general vigente y la propia de la Universidad Miguel Hernández y según lo certificado por las personas que han realizado la tutoría y dirección, la tesis cumple los requisitos para proceder a su defensa pública.

En Sant Joan d'Alacant, a veinte de enero de 2020

VICENTE  
FRANCISCO  
GIL|GUILLEN

Firmado digitalmente por  
VICENTE FRANCISCO|  
GIL|GUILLEN  
Fecha: 2020.06.30  
12:44:11 +02'00'

Firmado: Prof. Vicente Francisco Gil Guillén  
Coordinador del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas





D. Félix Gutiérrez Rodero, director, y D. Enrique Bernal Morell, co-director, de la tesis doctoral titulada “Prevalencia e impacto de la viremia de bajo grado en la progresión clínica de los pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana que reciben tratamiento antirretroviral”

CERTIFICAN:

Que D. José Miguel Gómez Verdú ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado “Prevalencia e impacto de la viremia de bajo grado en la progresión clínica de los pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana que reciben tratamiento antirretroviral” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos en Sant Joan d’Alacant, a 20 de enero de dos mil veinte.

FELIX|  
GUTIERREZ|  
RODERO

Firmado digitalmente  
por FELIX|GUTIERREZ|  
RODERO  
Fecha: 2020.06.25  
14:07:26 +02'00'

Fdo. D. Félix Gutiérrez Rodero  
Director de tesis

ENRIQUE|  
BERNAL|  
MORELL

Firmado  
digitalmente por  
ENRIQUE|BERNAL|  
MORELL  
Fecha: 2020.06.25  
17:32:46 +02'00'

Fdo. D. Enrique Bernal Morell  
Co-director de tesis





«Y cuántas veces me ocurrió también, por carecer de disciplina, y sobre todo por vivir alejado de ese ambiente intelectual del cual recibe el investigador novel estímulos y energías, abandonar la labor en el momento en que, fatigado y hastiado, no tanto del trabajo cuanto de mi triste y enervadora soledad, comenzaba a columbrar los primeros tenues albores de la idea nueva!».

Santiago F. Ramón y Cajal, *Reglas y consejos sobre investigación científica*, prólogo de la segunda edición.



## AGRADECIMIENTOS

En el momento en el que tan sólo queda pendiente la deliberación del tribunal académico, estas líneas —las últimas en ser escritas, mas las primeras en ser leídas— me hacen reflexionar sobre el proceso de elaboración del presente trabajo. Ellas me otorgan conciencia de mi verdadero papel a lo largo del mismo, mostrándome que, ante todo, soy deudor de quienes me han traído hasta aquí. Estas personas, en mayor o menor medida, son las auténticas artífices de la investigación concluida. Para mí reservo el ejercicio de canalizar el esfuerzo que ellos me han regalado, junto a la labor de escriba que sintetiza la experiencia acumulada de tantos investigadores previos. De igual forma, asumo en exclusiva cuantos errores pueda comprender esta memoria.

Mi carácter me empuja a la reserva, pero sería injusto concluir aquí y dejar en el anonimato a quienes dedico mis palabras. En primer lugar, mis directores, los doctores Félix Gutiérrez Rodero y Enrique Bernal Morell, por su inestimable guía, estímulo, aportaciones y, sobre todo, por su consideración y paciencia ante un trabajo que podría haber superado sus resultados actuales y evitado demoras inexcusables. Somos muchos quienes debemos a Enrique nuestros inicios en la investigación y, probablemente, nunca llegaremos a ser capaces de compensar su esfuerzo y valía.

Francisco Román López Andreu, Paco, maestro y amigo. Una suerte de William Osler murciano. La persona que me ha enseñado un oficio y fijó en mí la marca indeleble de la Medicina Interna. Junto a él, quiero mostrar el cariño especial que tengo a María José García Puche, quien amadrinó en mis inicios y sembró la inquietud por ir siempre más allá. También, a cada una de las personas con quien he sido feliz compartiendo mi desempeño profesional en los hospitales Reina Sofía, Virgen del Castillo y Morales Meseguer.

A cuantos amigos ha puesto en mi camino el devenir de mis experiencias estudiantiles y laborales. A cada uno con nombre propio y, a la vez, bajo su sobrenombre colectivo.

Por último, mi familia. Este camino se hubiese truncado muchos años atrás si, desde el principio, no hubiese disfrutado del entorno más privilegiado. Desde niño, no he tenido otra preocupación que la de estudiar, ni estímulo más favorecido que el de aprender. Hoy, soy consciente de que cualquier dificultad existente fue hecha invisible a mis ojos.



## MODALIDAD E INDICIO DE CALIDAD

La presente tesis doctoral se presenta según la modalidad convencional. Sus principales resultados fueron aceptados el día 21 de febrero de 2018 para su publicación en la revista *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* (ISSN 1525-4135 para la edición impresa; CODEN: JJASFJ; ISSN 1077-9450 para la edición digital). Esta revista está indexada en el *Journal Citation Reports*. Tiene un factor de impacto de 3.863 (2018). En la categoría de *Enfermedades Infecciosas*, esta revista se encuentra en el primer cuartil, en la posición 21 de 286 revistas.

La referencia del artículo producto de esta tesis es:

Bernal E, Gómez JM, Jarrín I, Cano A, Muñoz A, Alcaraz A, et al. Low-Level Viremia Is Associated With Clinical Progression in HIV-Infected Patients Receiving Antiretroviral Treatment. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 2018;78(3):329-37.



# ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	17
<b>RELACIÓN DE FIGURAS Y TABLAS</b> .....	21
<b>RESUMEN</b> .....	23
<b>ABSTRACT</b> .....	27
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	31
<b>A. Perspectiva histórica</b> .....	33
<b>B. El Virus de la Inmunodeficiencia Humana</b> .....	35
B.1 Clasificación y estructura del virus.....	35
B.2 Genoma y ciclo biológico del virus.....	36
B.3 Patogenia de la infección por el VIH.....	38
B.4 Magnitud de la infección por el VIH.....	39
<b>C. Indicaciones y finalidad del tratamiento antirretroviral</b> .....	40
<b>D. Determinación de la carga viral</b> .....	42
<b>E. Carga viral plasmática detectable en pacientes con supresión viral tras inicio del tratamiento</b> .....	43
E.1 Fracaso virológico.....	44
E.1.1 Definición.....	44
E.1.2 Prevalencia e incidencia.....	45
E.1.3 Causas y factores relacionados con el fracaso virológico.....	46
E.1.4 Efectos del fracaso virológico.....	47
E.2 Viremia de bajo grado.....	50
E.2.1 Definición.....	50
E.2.2 Prevalencia.....	51
E.2.3 Factores relacionados con la aparición de la VBG.....	52
E.2.4 Consecuencias.....	55
E.2.4.1 Fracaso virológico.....	56
E.2.4.2 Progresión de la enfermedad (mortalidad, eventos SIDA y no SIDA).....	58
E.2.4.3 Adquisición de nuevas resistencias a fármacos.....	60
E.2.4.4 Deterioro inmunológico.....	64
E.2.4.5 Inflamación y estrés oxidativo.....	66
E.3 Viremia de muy bajo grado.....	68
E.4 Repuntes transitorios o «blips».....	71

<b>F. Hipótesis etiopatogénicas relativas a la viremia de bajo grado</b> .....	73
F.1 Activación del sistema inmune, replicación persistente en los reservorios virales y liberación de partículas virales procedentes de células en estado de latencia.....	74
F.2 Adherencia al tratamiento antirretroviral.....	76
F.3 Características de las técnicas de medición de la carga viral y la obtención de muestras.....	77
F.4 Procesos intercurrentes y otros condicionantes.....	79
<b>II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	81
<b>A. Objetivos principales</b> .....	83
<b>B. Objetivos secundarios</b> .....	83
<b>C. Hipótesis de trabajo</b> .....	83
<b>III. PACIENTES Y MÉTODO</b> .....	85
<b>A. Diseño del estudio</b> .....	87
<b>B. Población a estudio y período analizado</b> .....	87
<b>C. Cálculo del tamaño muestral</b> .....	88
<b>D. Criterios de inclusión y exclusión</b> .....	89
<b>E. Variables</b> .....	89
E.1 Variables principales.....	89
E.2 Características basales.....	90
<b>F. Análisis de datos</b> .....	91
<b>G. Fuente de datos</b> .....	92
<b>H. Aspectos éticos y legales</b> .....	92
<b>IV. RESULTADOS</b> .....	95
<b>A. Selección de pacientes</b> .....	97
<b>B. Análisis de las características basales de la muestra</b> .....	97
<b>C. Análisis de la prevalencia de la viremia de bajo grado y factores asociados</b> .....	99
<b>D. Análisis del impacto de la viremia de bajo grado sobre la incidencia de SIDA/Muerte</b> .....	106
<b>E. Análisis del impacto de la viremia de bajo grado sobre la incidencia de fracaso virológico</b> .....	110
<b>F. Análisis del impacto de la viremia de bajo grado sobre la incidencia de los eventos no SIDA graves</b> .....	113
<b>V. DISCUSIÓN</b> .....	117
<b>A. Características de la cohorte</b> .....	119

<b>B. Prevalencia de la viremia de bajo grado y factores asociados.....</b>	<b>120</b>
<b>C. Impacto de la viremia de bajo grado sobre la incidencia de SIDA/Muerte.....</b>	<b>124</b>
<b>D. Impacto de la viremia de bajo grado sobre la incidencia de fracaso virológico</b>	<b>125</b>
<b>E. Impacto de la viremia de bajo grado sobre la incidencia de los eventos no SIDA graves.....</b>	<b>127</b>
<b>F. Fortalezas y limitaciones del estudio.....</b>	<b>128</b>
<b>G. Aplicabilidad y desarrollos futuros de la investigación.....</b>	<b>130</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>133</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>137</b>
<b>Anexo I. Definiciones.....</b>	<b>139</b>
<b>Anexo II. Low-Level Viremia Is Associated With Clinical Progression in HIV-Infected Patients Receiving Antiretroviral Treatment.....</b>	<b>143</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>161</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ACTG</b>	<i>AIDS Clinical Trial Group</i>
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>aHR</b>	<i>Adjusted Hazard ratio</i>
<b>AIDS</b>	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i>
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ART</b>	<i>Antiretroviral therapy</i>
<b>ART-CC</b>	<i>Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration</i>
<b>AZT</b>	Azidotimidina
<b>CDC</b>	<i>Centers for Diseases Control and Prevention</i>
<b>CI</b>	<i>Confidence interval</i>
<b>CoRIS</b>	Cohorte de la Red Española de Investigación del SIDA
<b>CROI</b>	<i>Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections</i>
<b>CVP</b>	Carga viral plasmática
<b>DHHS</b>	<i>Department of Health and Human Services</i>
<b>DNC</b>	Detectable pero no cuantificable
<b>EACS</b>	<i>European AIDS Clinical Society</i>
<b>ECG</b>	Electrocardiograma
<b>EDTA</b>	Ácido etilendiaminotetraacético
<b>ENOS</b>	Eventos no relacionados con el SIDA
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>FEDER</b>	Fondo Europeo de Desarrollo Regional
<b>FV</b>	Fracaso virológico
<b>GeSIDA</b>	Grupo de Estudio del SIDA
<b>HBsAg</b>	Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B
<b>HIV</b>	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
<b>HLA</b>	<i>Human leukocyte antigen</i>
<b>HR</b>	<i>Hazard ratio</i>
<b>HRa</b>	<i>Hazard ratio</i> ajustada
<b>HTLV-III</b>	<i>Human T-cell Leukemia Virus type III</i>
<b>IC</b>	Intervalo de confianza
<b>IL</b>	Interleuquina

<b>INSTI</b>	Inhibidor de la transferencia de cadenas de la integrasa o inhibidor de la integrasa
<b>IP</b>	Inhibidor de la proteasa
<b>IP/r</b>	Inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir
<b>ITIAN</b>	Inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleósidos o nucleótidos
<b>ITINN</b>	Inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleósidos o nucleótidos
<b>LAV</b>	<i>Lymphadenopathy Associated Virus</i>
<b>LCR</b>	Líquido cefalorraquídeo
<b>LLV</b>	<i>Low-level viremia</i>
<b>LTR</b>	<i>Long terminal repeats</i>
<b>NAEs</b>	<i>Non-AIDS events</i>
<b>ND</b>	No detectable
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>OR</b>	<i>Odds ratio</i>
<b>PCR</b>	<i>Polimerase chain reaction</i>
<b>PCR-RT</b>	<i>Polimerase chain reaction-Real time</i>
<b>PPT</b>	Tubos de preparación de plasma
<b>RIC</b>	Rango intercuartílico
<b>RIS</b>	Red Española de Investigación del SIDA
<b>RR</b>	Riesgo relativo
<b>SEIMC</b>	Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica
<b>SIDA</b>	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
<b>START</b>	<i>Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment</i>
<b>TAR</b>	Tratamiento antirretroviral
<b>TARGA</b>	Tratamiento antirretroviral de gran actividad
<b>TFG</b>	Tasa de filtrado glomerular
<b>TI</b>	Transcriptasa inversa
<b>UDI</b>	Usuarios de drogas inyectables
<b>VBG</b>	Viremia de bajo grado
<b>VBG50-199</b>	Viremia de bajo grado consistente en dos o más CVP consecutivas entre 50 y 199 copias/ml, determinadas con un mínimo de 1 mes de separación

<b>VBG200-499</b>	Viremia de bajo grado consistente en dos o más CVP consecutivas entre 50 y 499 copias/ml registradas con un mínimo de 1 mes de separación y con, al menos, una carga viral entre 200 y 499 copias/ml
<b>VHB</b>	Virus de la hepatitis B
<b>VHC</b>	Virus de la hepatitis C
<b>VIH</b>	Virus de la inmunodeficiencia humana
<b>VL</b>	<i>Viral load</i>
<b>VMBG</b>	Viremia de muy bajo grado
<b>ZDV</b>	Zidovudina



## RELACIÓN DE FIGURAS Y TABLAS

<b>Figura I.B.1.-</b> Estructura del VIH.....	
<b>Figura I.B.2a.-</b> Genoma del VIH.....	
<b>Figura I.B.2b.-</b> Ciclo biológico del VIH.....	
<b>Figura I.E.2.4.3.-</b> Resistencias estratificadas según viremia y familias terapéuticas.....	
<b>Figura III.B.-</b> Centros participantes en la CoRIS a de 30 de noviembre de 2017.....	
<b>Figura IV.A.1.-</b> Diagrama de selección de pacientes.....	
<b>Figura IV.C.1.-</b> Distribución por sexo.....	
<b>Figura IV.C.2.-</b> Distribución por grupo de edad.....	
<b>Figura IV.C.3.-</b> Distribución según grupo de transmisión.....	
<b>Figura IV.C.4.-</b> Distribución según los niveles de recuento de linfocitos T CD4+.....	
<b>Figura IV.C.5.-</b> Distribución según los niveles de CVP al inicio del TAR.....	
<b>Figura IV.C.6.-</b> Distribución según la presencia de criterios de SIDA en el momento de inicio del TAR.....	
<b>Figura IV.C.7.-</b> Distribución según la detección de anticuerpos contra el VHC.....	
<b>Figura IV.C.8.-</b> Distribución según los distintos esquemas de TAR.....	
<b>Figura IV. C.9.-</b> Distribución según los períodos de inicio del TAR.....	
<b>Figura IV.D.1.-</b> Incidencia acumulada del primer evento combinado SIDA/muerte, tras alcanzar la supresión virológica, en relación con los distintos niveles de VBG.....	
<b>Figura IV.E.1.-</b> Incidencia acumulada de FV, tras alcanzar la supresión virológica, en relación con los distintos niveles de VBG.....	
<b>Figura IV.F.1.-</b> Incidencia acumulada de cualquier ENOS grave, tras alcanzar la supresión virológica, en relación con los distintos niveles de VBG.....	
<b>Tabla I.E.2.3.-</b> Relación entre las características del huésped y la VBG.....	
<b>Tabla I.E.2.4.3.-</b> Proporción de mutaciones de resistencia según estratos de CVP.....	
<b>Tabla I.E.4.-</b> Factores relacionados con el desarrollo de «blips».....	
<b>Tabla IV.B.1.-</b> Características basales de los pacientes incluidos en el estudio.....	
<b>Tabla IV.C.1.-</b> Características basales estratificadas según el grupo de VBG y análisis univariante de los factores asociados con VBG50-199 y VBG200-499 en comparación con la ausencia de VBG.....	

<b>Tabla IV.C.2.-</b> Análisis multivariante de los factores sociodemográficos y clínicos asociados con VBG50-199 y VBG200-499 en comparación con la ausencia de VBG.....	
<b>Tabla IV.D.1.-</b> Incidencia acumulada de eventos SIDA/muerte.....	
<b>Tabla IV.D.2.-</b> Análisis multivariante para estimar el efecto de la VBG sobre el evento combinado SIDA/muerte.....	
<b>Tabla IV.E.1.-</b> Incidencia acumulada de fracaso virológico.....	
<b>Tabla IV.E.2.-</b> Análisis multivariante para estimar el efecto de la VBG sobre el desarrollo de FV.....	
<b>Tabla IV.F.1.-</b> Incidencia acumulada de ENOS graves.....	
<b>Tabla IV.F.2.-</b> Análisis multivariante para estimar el efecto de la VBG sobre el desarrollo de ENOS graves.....	
<b>Tabla IV.F.3.-</b> Tasas de incidencia y Cocientes de riesgo crudos y ajustados de evento combinado SIDA/muerte, fracaso virológico y ENOS grave según la presencia de VBG.....	
<b>Tabla Anexo I.1.-</b> Sistema de clasificación para la infección por el VIH.....	
<b>Tabla Anexo I.2.-</b> Listado de ENOS graves.....	

# **RESUMEN**



## **RESUMEN**

### **INTRODUCCIÓN**

El nivel de viremia en la infección por VIH está estrechamente relacionado con una mayor progresión a SIDA y la mortalidad. Después de la introducción de la terapia antirretroviral (TAR), la morbilidad y mortalidad relacionadas con el VIH se han reducido drásticamente gracias a su capacidad para suprimir la replicación del VIH. Por esta razón, las pautas internacionales de tratamiento siempre han marcado como objetivo mantener una carga viral indetectable. Sin embargo, las técnicas de detección de carga viral actuales poseen una mayor sensibilidad para detectar la viremia y la base de evidencia relativa al umbral óptimo a partir del cual se puede considerar que el paciente tiene un mayor riesgo de desarrollar eventos clínicos resulta limitada. Como reflejo de la escasez de datos sobre resultados clínicos, las guías de tratamiento difieren en sus recomendaciones. Las directrices españolas y europeas consideran 50 copias/ml como el umbral más adecuado. En contraste, otros organismos internacionales como el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos de América consideran 200 copias/ml como el punto de corte más apropiado. Por otro lado, aproximadamente el 20% de los pacientes infectados por el VIH que reciben TAR muestra repuntes transitorios de viremia («blips», generalmente definidos como viremia detectable hasta un máximo de 500 copias/ml) y el 4-10% experimenta episodios persistentes de viremia de bajo grado, entre 50 y 500 copias/ml. Aunque los «blips» no están claramente asociados con una mayor probabilidad de fracaso virológico o inmunitario, hay estudios que muestran que la viremia persistente de bajo grado (VBG) está asociada con un mayor riesgo de fracaso virológico posterior, aparición de resistencia a fármacos y deterioro del estado inmune.

Sin embargo, el impacto global de la VBG en los resultados clínicos sigue siendo, en gran medida, desconocido y no está claro si la VBG <200 copias/ml confiere un riesgo independiente de otros factores. Como resultado, actualmente, no existe consenso sobre cómo guiar el manejo de los pacientes que experimentan VBG.

### **OBJETIVOS**

El objetivo fue investigar el impacto a largo plazo de la viremia de bajo grado en el desarrollo de mortalidad por todas las causas, de eventos de SIDA y no SIDA (ENOS), así como en el fracaso virológico en aquellos pacientes que reciben TAR.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

Analizamos adultos sin tratamiento previo procedentes de la Cohorte de la Red Española de Investigación del SIDA (CoRIS), que iniciaron TAR entre 2004 y 2015 y alcanzaron una carga viral plasmática (CVP) inferior a 50 copias/ml, dentro de los 3-9 meses posteriores al inicio del tratamiento. De acuerdo con estudios previos y para discriminar mejor nuestros resultados, los pacientes que presentaron VBG fueron estratificados en 2 subgrupos. La VBG50-199 se definió como dos CVP consecutivas entre 50 y 199 copias/ml, y VBG200-499 como dos CVP consecutivas entre 50 y 499 copias/ml con, al menos, una entre 200 y 499 copias/ml. Se utilizaron modelos de Cox multivariantes para estimar la asociación de la VBG con el evento combinado SIDA/muerte, ENOS y fracaso virológico. La VBG se definió como una covariable tiempo-dependiente.

## **RESULTADOS**

De 5986 pacientes incluidos, 237 (4,0%) experimentaron VBG50–199 y 168 (2,8%) VBG200–499. Ciento setenta y un pacientes murieron o desarrollaron un evento de SIDA, 245 tenían algún ENOS grave y 280 presentaron fracaso virológico. La VBG200-499 estuvo fuertemente asociada con una mayor incidencia del evento combinado SIDA/muerte [razón de riesgo ajustada (HRa), 2,89; intervalo de confianza del 95% (IC), 1,41 – 5,92] y fracaso virológico (HRa, 3,25; IC 95%, 1,77 – 5,99); mientras que no se observaron diferencias entre VBG50-199 y pacientes sin VBG ni para el evento combinado SIDA/muerte (HRa, 1,84; IC 95%, 0,89 – 3,82) ni fracaso virológico (HRa, 1,42; IC 95%, 0,78 – 2,58). La VBG no se asoció con la aparición de ENOS graves.

## **CONCLUSIONES**

En esta cohorte, la VBG200–499 se asoció fuertemente con el evento combinado SIDA/muerte y fracaso virológico; pero no con los ENOS grave. Por lo tanto, se debería considerar la intensificación del esfuerzo terapéutico en pacientes con más de 200 copias/ml.

## **PALABRAS CLAVE**

Viremia de bajo grado, fracaso virológico, evento SIDA, muerte, evento no SIDA.

# **ABSTRACT**



## **ABSTRACT**

### **BACKGROUND**

HIV viremia is closely associated with increased progression to AIDS and death. Following the introduction of combined antiretroviral therapy (ART), HIV-related morbidity and mortality has been drastically reduced through its ability to suppress HIV replication. For this reason, international treatment guidelines have always aimed at maintaining an undetectable viral load. Yet current viral load assays show increased sensitivity for detecting HIV viremia and there is limited evidence on the optimal threshold from which a patient can be presently considered to be at greater risk of developing clinical events. Reflecting the dearth of data on clinical outcomes, treatment guidelines diverge in their recommendations. Spanish and European guidelines consider 50 copies/ml as the most suitable threshold. In contrast, other international organism like the Department of Health and Human Services of the United States of America consider 200 copies/ml as the most appropriate cut-off point. On the other hand, about 20% of HIV-infected patients receiving ART shows transient rebounds of viremia («blips», generally defined as detectable viremia up to a maximum of 500 copies/ml) and 4-10% experiences persistent episodes of detectable viremia at low levels, between 50 and 500 copies ml. Although «blips» are not associated with a greater likelihood of virological or immune failure, there are studies that show that persistent low-level viremia (LLV) is associated with a greater risk of subsequent virologic failure, onset of drug resistance and impaired immune status.

However, the overall impact of LLV on clinical outcomes remains largely unknown, and it is uncertain whether LLV of <200 copies/ml confers independent risks. As a result, currently there is no consensus as how to guide management of patients experiencing LLV.

### **OBJECTIVES**

The objective was investigate the long-term impact of low-level viremia on all-cause mortality, AIDS and non-AIDS events (NAEs), and virological failure in patients receiving ART.

### **MATERIAL AND METHOD**

We analyzed ART-naïve adults from the cohort of the Spanish AIDS Research Network (CoRIS) who started ART between 2004 and 2015 and reached the goal of plasma viral load

(CVP) lower than 50 copies/ml, within 3-9 months after the start of treatment. According to previous studies and in order to better discriminate our results, patients who presented LLV were stratified into 2 subgroups. The first, LLV50-199 was defined as two consecutive VL between 50 and 199 copies/ml, and LLV200-499 as two consecutive VL between 50 and 499 copies/ml with at least one between 200 and 499 copies/ml. Multivariable Cox models were used to estimate the association of LLV with AIDS events/death, NAEs and virological failure. LLV was defined as a time dependent covariate.

## **RESULTS**

Of 5986 patients included, 237 (4.0%) experienced LLV50–199 and 168 (2.8%) LLV200–499. One hundred seventy-one patients died or developed an AIDS event, 245 had any serious NAE and 280 had virological failure. LLV200-499 was strongly associated with a higher risk of both AIDS events/death [adjusted hazard ratio (aHR), 2.89; 95% confidence interval (CI), 1.41 – 5.92] and virological failure (aHR, 3.25; 95% CI, 1.77 – 5.99), while no differences were observed between LLV50-199 and no LLV neither for AIDS events/death (aHR, 1.84; 95% CI, 0.89 – 3.82) nor virological failure (aHR, 1.42; 95% CI, 0.78 – 2.58). LLV was not associated with the occurrence of any serious NAE.

## **CONCLUSION**

In this cohort, LLV200–499 was strongly associated with AIDS events/death and virological failure, but not with any serious NAE. Therefore, vigorous treatment should be implemented in patients with more than 200 copies/ml.

## **KEY WORDS**

Low-level viremia, virological failure, AIDS event, death, Non-AIDS event.

# **I. INTRODUCCIÓN**



## A. PERSPECTIVA HISTÓRICA

En palabras de Robert Gallo y Luc Montagnier, la historia del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) comenzó en un entorno que favorecería su expansión, pues «a finales de la década de 1970, muchas personas pensaban que las enfermedades epidémicas causadas por microbios, incluidos los virus, ya no representaban una amenaza en los países industrializados»(1).

El 5 de junio de 1981, el organismo estadounidense *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC) notificó en su informe semanal una serie de casos, que se había producido entre octubre de 1980 y mayo del mismo año de la notificación, de un tipo de infección pulmonar poco frecuente; se trataba de neumonía por *Pneumocystis carinii* (hoy *Pneumocystis jiroveci*) en cinco varones jóvenes homosexuales, previamente sanos. Además, todos los pacientes presentaban otras infecciones inusuales, lo que indicaba que su sistema inmunológico se encontraba afectado(2). Dicho informe supuso la primera comunicación oficial de lo que hoy conocemos como el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA).

Además de la serie anterior, los CDC también recibieron informes sobre otro grupo de pacientes, de características similares, en los que se diagnosticó una variedad inusualmente agresiva de sarcoma de Kaposi(3). En respuesta, se establece un grupo de trabajo sobre el sarcoma de Kaposi y las infecciones oportunistas para identificar los factores de riesgo y desarrollar una definición de caso con vistas a planificar una vigilancia nacional. A finales de 1981, había un total de 270 casos reportados de deficiencia inmunitaria grave entre hombres homosexuales, 121 de los cuales había fallecido(4).

El año siguiente, los CDC usan por primera vez el término SIDA y publican la primera definición del mismo: «una enfermedad, al menos, moderadamente predictiva de un defecto en la inmunidad celular, que ocurre en una persona sin causa conocida que justifique dicha disminución de resistencias»(5). También se notifica el primer caso de SIDA en un niño que recibió transfusiones sanguíneas(6), seguido de otros 22 casos de inmunodeficiencia inexplicada e infecciones oportunistas en menores(7).

Poco después, en 1983, en diversos laboratorios consiguen aislar el microorganismo responsable de la enfermedad. En primer lugar, el equipo de Montagnier consiguió

identificarlo en las adenopatías de un paciente infectado, motivo por el que lo denominaron *Lymphadenopathy Associated Virus* (LAV). Poco después, Gallo y sus colaboradores describen el *Human T-cell Leukemia Virus type III* (HTLV-III). Finalmente, ambos virus se reconocieron como el mismo y se fijó su denominación con el término actual(8). El mismo año que se tomaba esta decisión, Clavel et al. describieron, en pacientes con SIDA de África Occidental, un virus antigénicamente relacionado con el anterior, que se denominó VIH-2 para distinguirlo del primero, al que se denominó VIH-1(9). Únicamente el tipo 1 será objeto de este trabajo.

En 1987, la *Food and Drug Administration* (FDA) estadounidense aprobó el primer fármaco antiviral, la zidovudina o azidotimidina (ZDV o AZT), para su uso en el control de la replicación del VIH mediante inhibición de la actividad de la enzima transcriptasa inversa (TI)(10). La zidovudina forma parte de una clase de medicamentos denominados inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos o nucleótidos (ITIAN). Después de 1990, se agregaron otros ITIAN al arsenal terapéutico, que también demostraron frenar la replicación del virus y la progresión de la infección(11,12).

Durante esta primera etapa, que se prolonga hasta 1995, la terapia antiviral estándar se pautó mayoritariamente como monoterapia, siendo su eficacia parcial. Además, dichos fármacos se acompañaban de toxicidad importante y un número considerable de efectos adversos, lo que condicionaba mala adherencia a los mismos.

A mediados de la década de 1990, se desarrolló la clase de antirretrovirales conocidos como inhibidores de la proteasa (IP). Este avance marcó el comienzo de una nueva era de tratamiento, pues la combinación de los ITIAN con los IP establece la denominada terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA). Estos esquemas consiguieron un descenso espectacular en los datos de morbilidad asociada al VIH(13).

En este contexto, se celebra en Vancouver la XI Conferencia Internacional de SIDA (1996), bajo el lema «Un mundo, una esperanza», que supuso un punto de inflexión respecto al horizonte pesimista que se dibujaba hasta la fecha. Los buenos resultados obtenidos por las pautas del TARGA plantearon, incluso, la posibilidad de erradicación de la infección. No obstante, los investigadores ya mostraron su escepticismo sobre tal extremo y también advirtieron sobre el importante condicionamiento que, para ello, suponía la brecha

económica existente entre países: «El lema es excelente, pero en estos momentos no tenemos un mundo»(14).

En los años posteriores, continuaron apareciendo nuevas familias de fármacos, como los llamados inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos o nucleótidos (ITINN), que funcionan de manera similar a los ITIAN(15); los inhibidores de la fusión(16) o los más recientes inhibidores de la integrasa(17) y el antagonista del correceptor de quimiocinas CCR5(18).

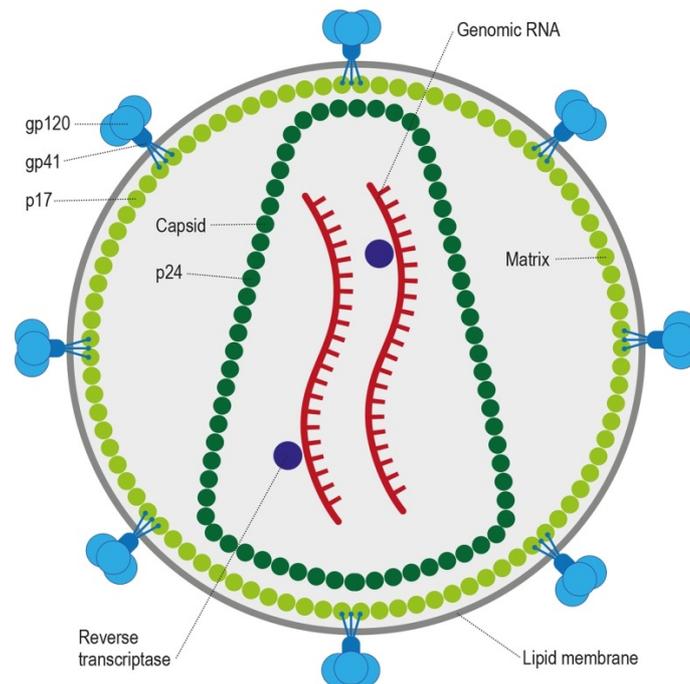
Durante este período, también ha habido avances significativos en técnicas para la detección del virus, así como en la comprensión de la naturaleza y etiopatogenia del VIH. Hoy nos situamos en un escenario en el que la esperanza de vida de las personas infectadas, cuando son atendidas de forma temprana, es similar a la de la población general(19) y los profesionales perseguimos el objetivo de frenar por completo la replicación viral, cuando no aspirar a su curación(20,21).

## **B. EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA**

### **B.1 CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA DEL VIRUS**

El VIH pertenece a la familia de *Retroviridae* y dentro de ésta, se encuadra en el género *Lentivirus*(22). Sus partículas o viriones poseen una envuelta formada por la glicoproteína gp160 que, a su vez, se subdivide en dos dominios, el gp120, implicado en la interacción con los receptores de las células infectadas, y el gp41 o dominio de fusión(23). En esta capa más exterior, también encontramos parte de la membrana plasmática de las células infectadas, que el virus lleva consigo durante su replicación, de ahí que disponga de numerosas moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y otras moléculas de adhesión, que ejercen un papel importante en la capacidad infectiva del virus.

Figura I.B.1. Estructura del VIH.



Becerra et al(24).

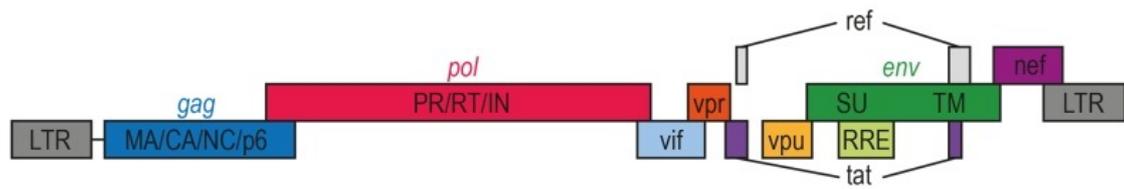
En el interior, existe otra matriz constituida por la proteína p17, bajo la cual se sitúa el núcleo revestido por la proteína de la cápside (p24), que encierra el material genético del virus junto a aquellas enzimas necesarias para la replicación del VIH (transcriptasa inversa, integrasa y proteasa)(25).

## B.2 GENOMA Y CICLO BIOLÓGICO DEL VIRUS

El genoma del VIH se compone de 2 cadenas simples de ácido ribonucleico (ARN), con polaridad positiva, cada una de las cuales se articula en 3 genes principales estructurales, denominados *gag*, *pol* y *env*, y 6 genes reguladores, conocidos como *nef*, *tat*, *rev*, *vpr*, *vif* y *vpu*. Dicho material codifica las proteínas virales necesarias para la arquitectura y replicación viral.

El gen *gag* codifica proteínas del núcleo, del gen *pol* dependen las enzimas necesarias para la replicación, y el gen *env*, codifica la glicoproteínas gp160 de la cápside(26). Además de estas tres proteínas esenciales, el VIH también codifica proteínas con funciones reguladoras y auxiliares gracias a los genes *tat* y *rev*, que activan la transcripción viral y controlan la ensambladura y la exportación del núcleo de los productos de transcripción(27). Por último, comentaremos que el genoma viral está flanqueado por secuencias de repeticiones terminales largas necesarias para la transcripción viral, la transcripción inversa y la integración(28,29).

Figura I.B.2a. Genoma del VIH.



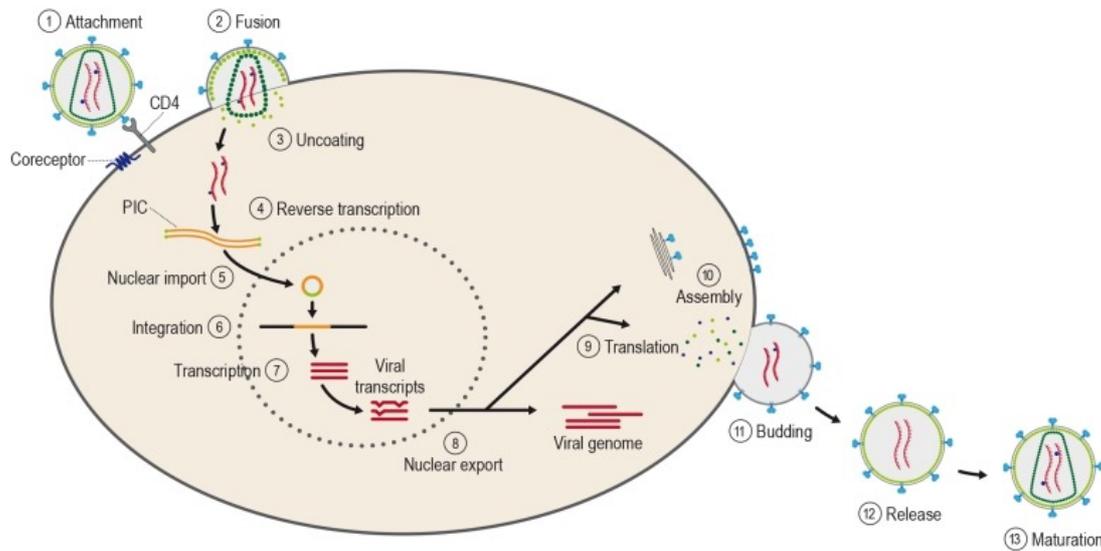
LTR: long terminal repeats/ repeticiones terminales largas. Becerra et al(24).

El ciclo de infección comienza con la unión de las glicoproteínas de la envoltura (gp120 y gp41) con el receptor CD4 y el correceptor de membrana, lo que conduce a la fusión de las membranas del virus y la célula infectada, produciendo la entrada del primero en la segunda. Después de la fusión de la membrana, en el citoplasma celular, el virus se desprende de su recubrimiento y libera el ARN viral. La conversión del ARN viral en ácido desoxirribonucleico (ADN) proviral tiene lugar, en el mismo citoplasma, debido a la acción de la transcriptasa inversa. Una vez que se dispone de una cadena de ADN de doble hélice, ésta se integra dentro del genoma celular mediante la acción de la integrasa. La integración del ADN proviral y la expresión del provirus requieren que la célula diana se encuentre en un estado de activación; por ello, aquellos monocitos o linfocitos T CD4+ quiescentes son reservorios celulares del VIH. Tras la activación celular, se produce la transcripción del ADN proviral en diversas moléculas de ARN mensajero, que se exportarán al citoplasma para la codificación de largas cadenas de proteínas estructurales y reguladoras del propio VIH.

Dicho proceso de transcripción produce, como resultado, la síntesis temprana de proteínas reguladoras del VIH-1 tales como Tat y Rev. Tat se une al elemento de respuesta de transactivación, al comienzo del ARN del VIH-1 en el núcleo, y estimula la transcripción y la formación de transcripciones de ARN más largas. Rev facilita la transcripción de transcritos de ARN más largos y la expresión de genes estructurales y enzimáticos e inhibe la producción de proteínas reguladoras, por lo tanto, promueve la formación de partículas virales maduras (24,30).

A continuación, la proteasa corta dichas cadenas largas en proteínas individuales más pequeñas, que se unen a copias del material genético del ARN del VIH y ensamblan nuevos viriones. Por último, los virus recién ensamblados salen de la célula huésped arrastrando parte de la membrana celular.

Figura I.B.2b. Ciclo biológico del VIH.



Becerra et al(24).

### B.3 PATOGENIA DE LA INFECCIÓN POR EL VIH

El VIH se transmite por contacto a través de superficies mucosas (oral, sexual y rectal), intercambio de sangre infectada, lactancia y/o paso de la barrera placentaria en una madre portadora(31–34). Aunque ciertos fluidos como las lágrimas, la orina y la saliva pueden contener bajas concentraciones del virus, la transmisión a través de dichos fluidos es extremadamente rara y éstos no han sido establecidos como fuente de contagio. Por otro lado, no se ha documentado ningún caso de transmisión a través de exposición a la tos o el estornudo de una persona infectada o por la picadura de un mosquito(24).

El VIH afecta principalmente a los linfocitos T CD4+, células responsables de la respuesta inmune adaptativa o adquirida que se localizan, sobre todo, en los ganglios linfáticos y en el tejido linfoide del aparato digestivo. Éstas pueden ser alcanzadas por el virus bien desde el torrente sanguíneo o bien desde los epitelios infectados tras un contacto(30). Una vez infectadas las células CD4+, la intensa activación inmune inducida por el virus genera un mayor número de estos linfocitos que se convierten, a su vez, en nuevas dianas del mismo; para, finalmente, acabar agotando su producción, lo que aboca a una situación de replicación viral incontrolada. En esta etapa de la infección, el sistema inmune defectuoso permite la reactivación de patógenos latentes preexistentes que saturan aún más la respuesta

inmune(35). Tal círculo vicioso conduce a la claudicación del sistema inmune adaptativo y, si no media una intervención terapéutica adecuada, a la consiguiente progresión a SIDA(36).

A pesar del papel predominante de la inmunidad adquirida en la patogenia del VIH, una evidencia científica cada vez más sólida sugiere que el sistema inmune innato también ejerce una importante labor en el control del virus(37). A día de hoy, tenemos constancia de que las células que forman parte del mismo (monocitos, macrófagos, células dendríticas y *natural-killer*) tienen un papel muy importante en la infección por el VIH(38). En las fases iniciales de la infección, es decir, en las primeras semanas tras la exposición, cuando aún no ha tenido lugar la activación completa de la inmunidad adquirida, el virus se propaga sin control a través de los linfocitos T CD4+, lo que conduce a pensar en un fallo en los mecanismo inmunitarios innatos, que habitualmente controlan las infecciones víricas(36,39–41). No obstante, sigue sin aclararse por completo si la inmunidad innata contribuye a la reducción de la replicación viral y regula la activación inmune(36).

Finalmente, cuando la inmunidad adquirida se activa, entran en juego los linfocitos T CD8+, ocasionando una reducción de la viremia. Sin embargo, alcanzado este punto, el virus ya ha establecido sus reservorios en los órganos linfáticos, lo que le permite una replicación persistente y el huésped sufre las consecuencias de la infección crónica(39).

#### **B.4 MAGNITUD DE LA INFECCIÓN POR EL VIH**

El SIDA, causado por la infección del VIH, es una de las pandemias más devastadoras jamás registradas en la historia humana. Poco después de los primeros casos, la enfermedad se extendió implacablemente, infectando a cerca de 80 millones de personas en todo el mundo(24).

Según las estimaciones del Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/Sida (ONUSIDA), hasta la fecha, más de 30 millones de personas han muerto debido a causas relacionadas con el SIDA(42); sin embargo, en la última década, gracias a los avances en prevención y tratamiento, la pandemia parece estabilizarse(24). La incidencia mundial ha disminuido de 3,1 millones de infecciones en el año 2000 a 1,7 millones de infecciones en 2018, lo que representa una disminución cercana al 40% en nuevas infecciones. A pesar de ello, todavía hay un número elevado de nuevas infecciones por VIH y muertes relacionadas

con el SIDA. Sólo en 2018, se estima que 1,7 millones de personas contrajeron el VIH y 770.000 murieron por enfermedades relacionadas con el SIDA(42).

En 2018, 37,9 millones de personas eran portadoras de VIH y la cantidad de personas que vivían con el virus continuaba en aumento, en gran parte, debido al aumento de supervivencia relacionado con el mayor acceso al TAR(42).

## **C. INDICACIONES Y FINALIDAD DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL**

La carga viral plasmática (CVP) del VIH se encuentra estrechamente relacionada con una mayor progresión a SIDA y muerte de los pacientes infectados(43). Por ello, el principal objetivo del TAR es alcanzar cifras indetectables de CVP, para así disminuir la morbilidad y mortalidad asociadas a la infección por el VIH, preservar y/o recuperar el sistema inmunológico del paciente y prevenir la transmisión del virus(44).

La actualización más reciente de las guías del Grupo de Estudio del Sida (GeSIDA) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), establece que el TAR debe iniciarse en todos los pacientes con infección por VIH, independientemente de la clínica y del recuento de linfocitos CD4+(45).

Fundamentalmente, dos grandes ensayos clínicos han inclinado la balanza hacia el inicio de tratamiento en todo paciente infectado frente a los criterios de directrices anteriores. En primer lugar, destacamos el ensayo clínico *Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment* (START)(46), estudio internacional multicéntrico en el que se analizó a un total de 4.685 pacientes con un recuento de linfocitos CD4+ inicial superior a 500 células/mm<sup>3</sup>, los cuales fueron aleatorizados para iniciar TAR inmediatamente o diferirlo hasta que el nivel de CD4+ disminuyese por debajo de 350 células/mm<sup>3</sup>. Las variables principales del trabajo fueron la frecuencia de aparición de las siguientes condiciones, analizadas de forma compuesta: evento SIDA, evento no SIDA y muerte por cualquier causa.

Los pacientes fueron seguidos durante una media de 3 años. Al comienzo del estudio, la CVP media fue de 12.759 copias/ml y el recuento de CD4+ de 651 células/mm<sup>3</sup>. Los eventos relativos a las variables principales del análisis tuvieron lugar, en su conjunto, en el 1,8% de

los pacientes de inicio inmediato, frente al 4,1% de los de inicio diferido, lo que supuso una reducción del riesgo de aparición de eventos del 57% (IC 95%: 38-70). Las diferencias más destacables tuvieron lugar en la ocurrencia de eventos SIDA graves (reducción de riesgo del 72% en el primer grupo -IC 95%: 50-85-). Además, la mayor parte de los eventos se produjo en pacientes con recuentos de CD4+ superiores a 500 células/mm<sup>3</sup>. Con estos datos, el estudio fue detenido prematuramente para ofrecer TAR a todos los pacientes.

De este modo, los autores concluyeron que el inicio del TAR en adultos infectados por el VIH, con un recuento de linfocitos T CD4+ superior a 500 células/mm<sup>3</sup>, supuso un beneficio neto respecto al inicio después de que el recuento de linfocitos T CD4+ disminuyese a menos de 350 células/mm<sup>3</sup>.

Junto al anterior, el ensayo clínico TEMPRANO(47) es un estudio realizado en Costa de Marfil, con carácter multicéntrico, controlado, no ciego y con análisis de superioridad. En éste se incluyó un total de 2.056 pacientes con infección por VIH y un recuento de CD4+ inferior a 800 células/mm<sup>3</sup>, que no cumplían los criterios vigentes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para inicio de TAR. Los participantes fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos de tratamiento: 1) iniciación de TAR según los criterios de la OMS, 2) TAR según criterios OMS más isoniazida profiláctica, 3) TAR de inicio inmediato y 4) TAR de inicio inmediato más isoniazida. De este modo, se evaluaba simultáneamente la efectividad de la isoniazida en la prevención del desarrollo de tuberculosis.

El criterio principal de valoración fue, nuevamente, una variable compuesta que incluía el desarrollo de SIDA, de cáncer no asociado al SIDA, de enfermedad bacteriana invasiva no definitoria de SIDA o muerte por cualquier causa en un período de 30 meses. Se produjo un total de 204 eventos principales (3,8 eventos por cada 100 personas-años; IC 95%: 3,3-4,4), incluyendo 68 en pacientes con un recuento de CD4+ basal superior a 500 células/mm<sup>3</sup> (3,2 eventos por 100 personas-años, IC 95%: 2,4-4,0). La tuberculosis y las enfermedades bacterianas invasivas no definitorias de SIDA representaron el 42% y el 27% de los eventos, respectivamente. El riesgo de muerte o enfermedad grave relacionada con el VIH fue menor en pacientes con TAR de inicio inmediato que con TAR iniciado según criterios de la OMS (*hazard ratio* 0,56; IC 95%: 0,41-0,76; *hazard ratio* entre pacientes con un recuento basal de CD4+ superior a 500 células/mm<sup>3</sup> 0,56; IC 95%: 0,33-0,94) y menor con isoniazida que sin

ella (*hazard ratio* 0,65; IC 95%: 0,48-0,88; *hazard ratio* entre pacientes con un recuento basal de CD4+ superior a 500 células/mm<sup>3</sup> 0,61; IC 95%: 0,36-1,01).

Por tanto, el inicio inmediato del TAR condujo, de forma independiente, a tasas más bajas de enfermedad grave que el TAR diferido, tanto en el análisis general como entre los pacientes con recuentos de linfocitos T CD4+ superiores a 500 células/mm<sup>3</sup>.

Hasta la difusión de los resultados de los ensayos clínicos anteriores, la evidencia para iniciar tratamiento antirretroviral en pacientes con un recuento de linfocitos CD4+ superior a 350 células/mm<sup>3</sup> provenía, principalmente, de los resultados de estudios observacionales(48–52).

## D. DETERMINACIÓN DE LA CARGA VIRAL

Determinar la carga viral plasmática del VIH resulta fundamental para guiar el tratamiento y evaluar el curso de la infección. Históricamente, la supresión virológica se ha definido teniendo en cuenta los límites de detección de las distintas técnicas de análisis disponibles, que han mejorado desde el umbral de 400 copias/ml de los ensayos de primera generación, bajando después a 200 copias/ml, 50 copias/ml y, actualmente, a 20 copias/ml(53,54).

Desde la aprobación del primer sistema para cuantificar la CVP en 1996(55), las técnicas empleadas en esta labor se han basado en una de las siguientes metodologías:

- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (*Amplacor HIV-1 monitor* de Roche®)(55).
- Reacción en cadena de la ligasa (*LCx HIV-1* de Abbott®)(56).
- Amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos (NASBA) (*Nuclisens HIV-1 QT15* de BioMérieux®)(57).
- Amplificación de señal (*branched DNA*) (*Versant HIV-1 RNA 3.017* de Siemens®)(58).

No obstante, ciertas limitaciones condicionaron su uso y, finalmente, la aparición de una nueva generación, basada en la PCR en tiempo real (PCR-RT), ha ido sustituyendo a las anteriores. Ésta última es más sensible, más rápida y tiene menor riesgo de contaminación(59). A dicho grupo pertenecen el sistema *COBAS Ampliprep® TaqMan HIV-1* de Roche®(60), *Abbott RealTime® 29* de Abbott®(61), *Versant® kPCR* Molecular Systems de Siemens® y *Nuclisens® EasyQ HIV-1 v2.0* de BioMérieux®(62). En las últimas dos décadas,

diversos estudios han comparado tales métodos estableciendo un alto grado de correlación entre sus resultados(63–66).

La mayor sensibilidad de las técnicas PCR-RT ha condicionado, desde su aparición, un aumento del número de pacientes tratados con CVP detectables de bajo grado, ya sea episódica o persistente(67). La relevancia clínica de este fenómeno supone un tema de debate actual y se relaciona de manera directa con la finalidad del presente trabajo; por ello, más adelante, abordaremos nuevamente el tema cuando nos refiramos a las teorías etiológicas de la viremia de bajo grado.

## **E. CARGA VIRAL PLASMÁTICA DETECTABLE EN PACIENTES CON SUPRESIÓN VIRAL TRAS INICIO DE TRATAMIENTO**

Ya ha sido mencionado que el principal objetivo del TAR es alcanzar cifras indetectables de CVP, con el fin último de reducir la morbimortalidad derivada de la infección por el VIH, paliar el deterioro inmunológico del paciente y evitar la transmisión del virus. En términos globales, dicha meta se alcanza en la mayoría de pacientes que cumplen un tratamiento adecuado a día de hoy(45)(68).

Sin embargo, durante el seguimiento de una parte de estas personas infectadas se detectarán repuntes de viremias previamente suprimidas, que obligarán al médico responsable a replantear su estrategia. Diversos estudios han descrito episodios de viremia detectable de hasta el 20% al 40% de los pacientes que habían logrado la supresión viral completa(3–7).

Ello dependerá de diversos factores (magnitud del repunte, régimen de TAR...); pero el problema inicial reside en la falta de consenso para definir tales escenarios. Un repaso de las guías de las distintas sociedades nacionales e internaciones nos muestra la amplia variabilidad existente a la hora de acotar las posibles situaciones, del mismo modo que refleja la ausencia de certezas y de datos concluyentes al respecto, lo que condiciona el establecimiento de recomendaciones dispares para su manejo.

El objetivo principal de este trabajo es arrojar luz sobre la denominada viremia de bajo grado (VBG). Por ello, como punto de partida, llevaremos a cabo una revisión de la bibliografía más relevante relativa a los diferentes supuestos en los que puede situarse un paciente que,

cumpliendo tratamiento antirretroviral y habiendo alcanzado la supresión de la CVP, presenta un repunte de la misma.

Para ello, estructuraremos la exposición según los conceptos comúnmente aceptados, a pesar de que su definición pueda diferir, como ya hemos apuntado. Así, hablaremos de:

- Fracaso virológico.
- Viremia de bajo grado.
- Viremia de muy bajo grado.
- Repuntes transitorios o «blips».

## **E.1 FRACASO VIROLÓGICO**

Diversos ensayos clínicos y estudios de cohortes, revelan que aproximadamente el 20-30% de los pacientes experimentarán fracaso del tratamiento en su primera pauta(73). No obstante, debemos destacar que dentro de este concepto de fracaso del TAR, se incluyen:

- El *fracaso virológico*, entendido como la incapacidad para lograr la supresión virológica o la aparición de un repunte virológico.
- El *fracaso inmunológico*, es decir, el declive paulatino del sistema inmunitario, evaluado en la práctica clínica habitual mediante el recuento de células CD4+.
- El *fracaso clínico*, representado por la progresión de la enfermedad.

Estos no son mutuamente excluyentes y pueden coexistir, en particular, en aquellos pacientes con mala adherencia al tratamiento(73). En adelante, nos centraremos exclusivamente en el concepto de fracaso virológico (FV), por ser el directamente relacionado con el objetivo de nuestro trabajo.

### **E.1.1 Definición**

De entrada, una de las principales dificultades ante las que nos encontramos es la ausencia de una única definición aceptada por las diferentes sociedades científicas. Existen diferencias sustanciales entre las directrices de los países económicamente más desarrollados, que establecen umbrales de CVP del VIH entre 50 y 200 copias/ml, y las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para países en vías de desarrollo, que aplican un dintel de 1.000 copias/ml(44,45,74–76).

Más detalladamente, apreciamos que la actualización del año 2019 del documento de consenso respecto al TAR de GeSIDA, define como FV la presencia de una CVP superior a 50 copias/ml, confirmada en una segunda muestra consecutiva, transcurridas 24 semanas desde el inicio del TAR. No obstante, aclara que, si la CVP basal es muy elevada, pueden ser necesarias más de 24 semanas de TAR para alcanzar la CVP inferior a 50 copias/ml, particularmente en pautas con IP/r(45).

Muy similar es la postura de la *European AIDS Clinical Society* (EACS)(74); sin embargo las guías del mundo anglosajón(44,75), consideran el FV como la incapacidad de lograr o mantener la supresión de la replicación viral a un nivel de ARN del VIH inferior a 200 copias/ml.

### **E.1.2 Prevalencia e incidencia**

Nuevamente existe una importante diversidad de datos, porque los diversos estudios realizados no siempre se han diseñado con un objetivo común y, además, emplean metodología y medidas diferentes (prevalencia vs. incidencia), lo que complica la comparación de sus resultados. A ello se le une la ausencia de una única definición de FV. No obstante, una lectura pausada de los mismos permite alcanzar algunas conclusiones interesantes, que destacamos a continuación.

En los diversos ensayos clínicos que evalúan el inicio del TAR con las combinaciones que hoy se consideran preferentes, las tasas de FV a las 48 semanas son inferiores al 10%(45). Frente a estos trabajos realizados en condiciones controladas por el investigador, disponemos de datos procedentes de varias cohortes de seguimiento en la vida real, que complementan los resultados de los ensayos clínicos. Al respecto, el más relevante por volumen de pacientes incluidos es el reciente trabajo de la red de hospitales franceses para el estudio del VIH (FHDH-ANRS CO4), que examina la tendencia temporal en la tasa de FV, a partir de los 6 primeros meses tras inicio del TAR, entre 1997 y 2011 en Francia. El fracaso se definió como dos valores consecutivos de CVP superior a 500 copias/ml o como una determinación superior a 500 copias/ml seguida de un cambio de tratamiento. Aglutina un total de 81.738 pacientes, de los cuales, el 29,3% recibió TAR con uno o dos fármacos de inicio y el 45,4% presentó, al menos, un episodio de FV durante el seguimiento. No obstante, el porcentaje de pacientes con FV disminuyó del 61,5% en el período 1997-1998 al 9,7% en el intervalo 2009-2011 ( $P < 0,0001$ )(77).

Otro estudio multicéntrico reunió un total de 36.188 personas, procedentes de 16 cohortes de Canadá y Estados Unidos, que recibieron TAR entre 1996 y 2005. De estos pacientes, 17.820 (49,2%) experimentaron FV, definido éste como una determinación de CVP superior a 1.000 copias/ml. Tras un primer fracaso, 13.165 personas cambian de tratamiento y 7.159 desarrollaron un segundo FV. Junto a ello, cabe destacar que el riesgo de un segundo FV se redujo considerablemente desde 1996 (56 casos por 100 personas-años) hasta 2005 (16 casos por 100 personas-años,  $p < 0,001$ )(78).

Las evidencias anteriores se ven reforzadas por las conclusiones de otras cuatro cohortes de países occidentales (Estados Unidos, Suiza y Reino Unido), que abordan las tendencias en la eficacia del TAR. Todos han mostrado un descenso en la frecuencia de FV(9–12) ti (14–17), incluso el realizado antes del año 2006, cuando empezaron a aparecer nuevos fármacos(82).

Recientemente, en países en vías de desarrollo, también se han publicado datos que no difieren sustancialmente a los que ya se conocen. Así, a comienzos de 2018, un equipo sudafricano analizó una amplia cohorte observacional de 70.930 pacientes que recibieron TAR siguiendo los regímenes recomendados por la OMS. El FV, definido según criterio del organismo internacional, tuvo lugar en 14.380 de los 69.454 pacientes (22%) con esquemas de TAR de primera línea y en 1.092 de los 3.286 (33%) pacientes que seguían regímenes de segunda línea(83).

En definitiva, a pesar de la variabilidad de datos y criterios empleados, podemos concluir que las tasas de fracaso han disminuido drásticamente en la última década; en buena medida, como consecuencia del uso de nuevos fármacos y esquemas terapéuticos más potentes y mejor tolerados, y de las diversas directrices que recomiendan un rápido abordaje del FV desde mediados de la primera década del siglo XXI(77,78).

### **E.1.3 Causas y factores relacionados con el fracaso virológico**

Pueden clasificarse en:

- Relacionados con el paciente.
- Relacionados con el tratamiento.
- Relacionados con la infección.

En el primer grupo podemos incluir la mala adherencia terapéutica, la juventud, el género femenino, determinadas prácticas sexuales, el escaso seguimiento de controles, el consumo de sustancias tóxicas, los problemas de salud mental o la dificultad de acceso a la asistencia sanitaria(45,82,84,85). En el segundo, la selección de un régimen inicial menos potente, como la combinación de tres inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN) o el uso de inhibidores de la proteasa (IP) no potenciados(86); así como el empleo de una pauta basada en monoterapia o biterapia de ITIAN(77). En el último apartado, englobamos la presencia de resistencias, bien transmitidas por la fuente de contagio o bien adquiridas por una terapia inadecuada(22–24) , el haber alcanzado el estadio SIDA, la CVP elevada y el bajo recuento de linfocitos T CD4+(77,78,90,91).

En la mayoría de los estudios, la adherencia terapéutica subóptima y los efectos secundarios de la medicación, que se superponen significativamente, son las razones más comunes del fracaso de un primer régimen de TAR(92,93). Los problemas farmacocinéticos, incluyendo las interacciones medicamentosas, también pueden conducir al FV, aunque con una frecuencia considerablemente menor a la del mal cumplimiento o la intolerancia medicamentosa(73).

Es importante destacar que muchos de los factores anteriores pueden superponerse; por ejemplo, las personas con abuso de sustancias tóxicas pueden realizar menos controles sanitarios y, por lo tanto, tienen mayor propensión a CVP elevadas y bajos recuentos de linfocitos CD4+(73). Algunos estudios han sugerido que factores genéticos, como ciertos polimorfismos del receptor de la quimiocina 5 (CCR5), tienen un efecto modificador sobre la respuesta virológica al TAR; de ahí que podrían influir en el desarrollo de FV(94). No obstante, estas pruebas no se incorporan actualmente a la práctica clínica diaria.

#### **E.1.4 Efectos del fracaso virológico**

La bibliografía disponible hasta la fecha apunta a que el fracaso virológico se relaciona ampliamente con mayor incidencia de mortalidad, de eventos clínicos adversos, aparición de resistencias al TAR y mayores tasas de transmisión del virus(95–102).

Sobre la primera de las consecuencias citadas podemos extraer conclusiones del análisis de diversas cohortes. En un trabajo realizado en Sudáfrica y publicado en la presente década(95), realizado con el fin de evaluar el efecto de la interacción entre el recuento de linfocitos T

CD4+, la supresión de la CVP y la duración del TAR, sobre la mortalidad, encontramos que si bien el recuento de CD4+ es el predictor más importante de mortalidad, su efecto se modifica por la CVP. Se trata de un análisis de cohortes de pacientes infectados por VIH, que iniciaron TAR entre abril de 2004 y junio de 2011 en centro público sudafricano. De los 14.932 pacientes con TAR, 1.985 (13,3%) murieron. El recuento de linfocitos T CD4+ en el momento del fallecimiento (CD4+ < 50 vs. CD4+ ≥ 550 células/mm) se asoció con un riesgo relativo (RR) de morir de 46,3 (IC95%: 26,8-80); mientras que la CVP en el momento del deceso (no suprimida vs. suprimida) se asoció con un RR de 1,8 (IC95%: 1,5-2,1). El hallazgo más importante del estudio fue que el efecto relativo del recuento de células CD4+ sobre la mortalidad varió ostensiblemente según la CVP (de 10 a 55 veces)(95).

En nuestro medio, disponemos de datos concordantes. Así, en una publicación europea los pacientes se dividieron en 3 grupos según la proporción de tiempo que cada paciente se mantuviese con CVP detectable (≥400 copias/ml), durante los 6-18 meses posteriores al inicio de la TAR (0%, 1-99% y 100%). Entre los 2.046 sujetos incluidos, la supervivencia a los 72 meses fue la siguiente: 92,7% en el primer grupo (IC95%, 90,5-94,4), 85,6% en el segundo grupo (IC95%, 82,1-88,5); y 76,1% en el último (IC 95%, 70,6-80,7). A los 72 meses, el 96% del grupo 1, el 83% del grupo 2 y el 57% del grupo 3 tenían una carga de ARN del VIH de <400 copias / ml (p <0,01). Los autores concluyen que la CVP suprimida después de comenzar el TAR es un predictor de la supervivencia a los 72 meses(96).

En cuanto a la aparición de eventos clínicos adversos, resulta muy revelador un trabajo que comparan poblaciones de un país con alto desarrollo económico (Francia) frente a otro con ingresos medios (Brasil). Éste fue diseñado para evaluar si el predominio, dentro del espectro de morbimortalidad, de eventos no SIDA frente a eventos SIDA experimentado en los países más desarrollados también se había producido en un país de desarrollo mediano, aunque con amplio acceso al tratamiento antirretroviral. Utilizaron dos cohortes hospitalarias de personas infectadas por el VIH de sendos países, agrupando un total de 7.812 pacientes adultos atendidos entre enero de 2000 y diciembre de 2008, con un tiempo medio de seguimiento por paciente para las dos cohortes de 5,3 años (RIC 2,3-9,0).

Los eventos clínicos graves, tanto relacionados con el SIDA como no relacionados, se definieron como todos aquellos diagnósticos clínicos asociados con una hospitalización mayor o igual a 48 horas. Durante todo el período de estudio, la tasa de incidencia de eventos

graves fue de 21,5 por cada 100 personas-años de seguimiento (IC 95%: 20,3-22,8) en el conjunto de los pacientes; 20,5 por cada 100 personas-años de seguimiento (IC 95%: 19,1-22) en Francia y 24 por cada 100 personas-años de seguimiento (IC 95%: 21,8-26,4) en Brasil. Además, cuando se realizó el análisis ajustado en función de los niveles de CVP se demostró que los eventos clínicos graves, tanto SIDA como no SIDA, se asociaron a la viremia elevada (>400 copias/ml)(97).

Por otro lado, aunque los trabajos publicados desde que disponemos de fármacos más modernos indican que la incidencia y la prevalencia de la resistencia a los medicamentos contra el VIH está disminuyendo(98) –únicamente, algún estudio aislado apunta en sentido contrario(99)–, el fracaso virológico sigue claramente asociado a la selección de mutaciones que confieren resistencia al TAR. Así, en un gran estudio francés con 9.586 pacientes centrado en evaluar dicha variación, la cual ratifica, se relaciona claramente el FV (considerado éste como 2 mediciones consecutivas de CVP superior a 50 copias/ml), con la selección de mutaciones de resistencia comunes en la región de la transcriptasa inversa (M184V/I, K103N y K65R)(100).

Una cohorte prospectiva estadounidense que analizó 98 pacientes detectó que dos mediciones relativas a la CVP se comportaron como predictores independientes de la adquisición de mutaciones de resistencia: el número medio de copias de ARN del virus y la variación de la misma a lo largo del tiempo de seguimiento. El mayor riesgo de adquirir resistencias tuvo en pacientes cuya CVP promedio fue de 3-4  $\log_{10}$  copias/ml(101).

En último lugar, destacaremos que la CVP elevada es el principal predictor del riesgo de transmisión del virus. En un estudio ugandés clásico realizado en parejas heterosexuales serodiscordantes se examinó la influencia de la CVP en relación con otros factores de riesgo para la transmisión del VIH(102). Se identificó un total de 415 parejas a las que se realizó seguimiento de manera prospectiva durante 30 meses. Noventa de los 415 individuos inicialmente no infectados seroconvirtieron (incidencia de 11,8 casos por cada 100 personas-años de seguimiento). La tasa de transmisión de hombre a mujer no fue significativamente diferente de la tasa de transmisión de mujer a hombre. No obstante, la incidencia de seroconversión fue más alta entre las parejas que tenían una edad entre 15 y 19 años (15,3 por cada 100 personas-años de seguimiento). Otro dato interesante fue que la incidencia de transmisión fue mayor en varones no circuncidados, mientras que no hubo seroconversiones

entre los 50 hombres circuncidados. La CVP media fue significativamente mayor entre los sujetos inicialmente infectados cuyas parejas seroconvirtieron, que entre aquellos cuyas parejas no seroconvirtieron (90.254 copias/ml frente a 38.029 copias/ml,  $p=0,01$ ). Además, no hubo casos de transmisión entre parejas cuyo miembro seropositivo presentaba una CVP de menos de 1.500 copias/ml. En el análisis multivariado de niveles CVP expresados en logaritmo, cada incremento logarítmico de la carga viral se asoció con un incremento del riesgo de transmisión de 2,45 (IC 95%, 1,85 a 3,26)(102).

Por consiguiente, ante un paciente con fracaso virológico es preciso trazar una nueva estrategia de tratamiento que consiga la supresión viral sostenida.

## **E.2 VIREMIA DE BAJO GRADO**

Sabemos que, en los últimos años, la mejora de las técnicas que cuantifican la carga viral plasmática ha conseguido disminuir el umbral de detección de viremia, actualmente entre 20 y 50 copias/ml en la práctica clínica. Y como apuntábamos, supone una ampliación de los escenarios ante los que se encuentra el clínico que atiende a pacientes con infección por el VIH.

Entre éstos se sitúa la denominada viremia de bajo grado (VBG), sobre la que existe una base de evidencia limitada acerca el umbral óptimo a partir del cual se puede considerar que el paciente tiene mayor riesgo de desarrollar eventos clínicos o fracaso virológico. Además, como reflejo de la variabilidad de datos sobre dichos resultados clínicos, las guías de práctica clínica difieren en sus recomendaciones. En adelante, intentaremos resumir la evidencia más importante al respecto, comenzando por abordar el problema relativo a su definición, como ya hicimos con el FV.

### **E.2.1 Definición**

Hasta la fecha, no existe una definición consensuada de viremia de bajo grado. Las guías de GeSIDA contemplan dos posibilidades de VBG: por un lado, la CVP entre 50 y 200 copias/ml y, por otro, la CVP entre 200 y 1.000 copias/ml(45). Sin embargo, el *Department of Health and Human Services* de Estados Unidos (DHHS) considera como tal cualquier determinación de CVP inferior a 200 copias/ml(44), criterio que coincide nuevamente con el de las guías británicas(75). Por su parte, la EACS no realiza una definición específica de VBG, pero establece recomendaciones específicas para aquellos pacientes que se sitúan entre

50-500 copias/ml(74). Algunos trabajos incluyen los «blips» dentro del concepto de VBG, pero nosotros, en consonancia con las diversas guías y la bibliografía reciente, trataremos el tema aparte.

Además de las guías publicadas por las diversas sociedades científicas, varios investigadores han establecido su propio criterio de VBG, como veremos en los sucesivos epígrafes.

### **E.2.2 Prevalencia**

Los trabajos más recientes sitúan su prevalencia, en nuestro medio, en un intervalo que oscila entre el 4 y el 10%(103–106); resultando ésta mucho más elevada en países con menor desarrollo económico(83).

En este sentido, merece la pena destacar el estudio realizado por la *Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration* (ART-CC), que analizó los datos de 18 cohortes en Europa y América del Norte. Es un estudio de cohortes que incluyó pacientes infectados por VIH, que mantenían una CVP inferior a 50 copias/ml entre 3 y 9 meses después de comenzar el TAR. Para evaluar la VBG establece dos tramos de carga viral. Así, el grupo de VBG 50-199 se definió como al menos dos cargas virales consecutivas entre 50 y 199 copias/ml y separadas al menos un mes. El grupo VBG 200-499 se definió como al menos dos cargas virales consecutivas entre 50 y 499 copias/ml y separadas al menos un mes, con al menos una carga viral entre 200 y 499 copias/ml, siempre después de la supresión virológica. De los 17.902 pacientes incluidos, el 6,2% de los pacientes experimentó VBG, 3,5% en el primer grupo y 2,7% en el segundo(106).

Previamente, un equipo de investigadores estadounidense, analizando retrospectivamente los datos de una muestra empleada en dos ensayos clínicos anteriores, obtuvo una prevalencia de VBG del 5,6% en el conjunto de los 1.158 participantes examinados. En este trabajo, la viremia de bajo nivel se definió como CVP entre 50 y 1000 copias/ml, en 2 o más determinaciones consecutivas durante un período de 24 semanas, después de cumplir un mínimo de 24 semanas de TAR. Esta definición incluyó tanto a participantes que no alcanzaron una carga viral inferior a 50 copias/ml en la semana 24, como a aquellos que sí lo hicieron, pero posteriormente presentaron un repunte viral(105).

Publicaciones de los últimos años arrojan tanto datos en consonancia, como resultados discordantes con las ya mencionadas. Destacaremos dos de ellas. En primer lugar, disponemos de un registro nacional sueco que incluía sujetos mayores de 15 años, que seguían TAR durante, al menos 12 meses. Se excluyeron los pacientes con dos determinaciones consecutivas de CVP  $\geq 1000$  copias/ml. Los 1.015 participantes se estratificaron en cuatro categorías según los perfiles de viremia: viremia suprimida permanentemente ( $< 50$  copias/ml), VBG 50-199 copias/ml, VBG 200-999 copias/ml y viremia  $\geq 1000$  copias/ml. Finalmente, se registró un 6,9% de VBG 50-199 copias/ml y un 8,8% de VBG 200-999 copias/ml, con una tasa de seguimiento de 7.812 personas-años de seguimiento (mediana de 6,5 años)(107).

En el lado discordante encontramos un estudio retrospectivo australiano que incluyó a todos los pacientes con TAR que registraron CVP 20-200 copias/ml, después de haber alcanzado la supresión virológica, definida ésta como una CVP inferior a 20 copias/ml. Consideraron FV como una determinación superior a 200 copias/ml. El período de inclusión se estableció entre los años 2010 y 2012, con un seguimiento hasta junio de 2013. En total, 207 pacientes cumplieron los criterios de inclusión. Durante el seguimiento, el 39% de los individuos registraron VBG recurrente o persistente de entre 20-200 copias/ml; y un 7% experimentaron FV. No obstante, lo reducido del tamaño muestral y ciertas limitaciones metodológicas, que los propios autores señalan, obligan a valorar los datos con precaución(108).

### **E.2.3 Factores relacionados con la aparición de la VBG**

Diversos investigadores han intentado establecer factores de riesgo para el desarrollo de viremia de bajo grado. Como veremos a continuación, aunque los resultados son variados, existen ciertas coincidencias entre los diferentes trabajos. Antes, debemos aclarar que las teorías etiopatogénicas sobre la VBG son objeto de reflexión en apartados posteriores de esta monografía.

Resulta de gran interés para nuestro propósito actual revisar un estudio del Hospital Universitario de Gante (Bélgica) diseñado, específicamente, para evaluar la relación entre las características específicas del huésped y/o del virus con la VBG, en pacientes sometidos a TAR(67). Su principal ventaja, en comparación con otros estudios realizados sobre el tema, fue el uso de datos longitudinales de CVP en pacientes que fueron seleccionados de manera

retrospectiva, considerando elegibles todos aquellos que iniciaron o reiniciaron TAR entre enero de 1997 y diciembre de 2012. No obstante, la selección de pacientes con VBG y la de los miembros del grupo de control se basó exclusivamente en las determinaciones de carga viral obtenidas entre marzo de 2009 y diciembre de 2012. Para su inclusión fue preciso un seguimiento regular desde el inicio o reinicio del TAR y un mínimo de 6 mediciones de CVP en los 6 primeros meses tras el comienzo del tratamiento. Las personas englobadas en el grupo de VBG debía presentar, al menos, la mitad de todas las mediciones de CVP entre 20 y 250 copias/ml. En las personas del grupo control, las mediciones de CVP debían ser sistemáticamente indetectables, aunque se permitió una medición aislada por encima del límite de detección de la técnica (*Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 test v2*).

De los 173 pacientes seleccionados, 71 (41%) cumplían los criterios de inclusión en el grupo VBG y 102 (59%) para el grupo control. El sexo masculino, el reinicio del TAR, un tiempo de seguimiento menor, un régimen de TAR basado en IP, un mayor pico de CVP y una CVP mayor al inicio del TAR se identificaron como factores significativamente asociados a VBG en el análisis univariado. Sin embargo, tras la regresión multivariante, se excluyó el pico de CVP y, por el contrario, se añadió una variable que previamente sólo había mostrado tendencia a la correlación, pero sin alcanzar la significación: el tropismo CCR5 (tabla I.E.2.3).

Tabla I.E.2.3.- Relación entre las características del huésped y la VBG.

Variable	Control group <sup>a</sup> (n=102)	PLLV group <sup>a</sup> (n=71)	P (univariate)	OR (95 CI) <sup>b</sup> (multivariate)
Age (years)	44 (37–50)	45 (38–52)	0.440	
European origin	74 (72.5)	58 (81.7)	0.164	NA
Male gender	72 (70.6)	63 (88.7)	0.005	4.28 (1.40–13.00)
Duration of follow-up (months)	64 (47–98)	53 (43–71)	0.003	0.98 (0.97–0.99)
ART re-initiation	15 (14.7)	29 (40.8)	<0.001	3.94 (1.70–9.16)
Therapy adjustments	67 (65.7)	48 (67.6)	0.793	
PI-based ART regimen	63 (61.8)	59 (83.1)	0.002	2.90 (1.20–6.97)
Virus subtype B	61 (59.8)	52 (73.2)	0.068	NS
Plasma VL (log <sub>10</sub> copies/mL)				
at ART initiation	4.7 (4.1–5.1)	5.1 (5.0–5.4)	<0.001	3.52 (1.86–6.65)
zenith	4.9 (4.4–5.4)	5.3 (5.0–5.7)	<0.001	NA
CD4 count (cells/mm <sup>3</sup> )				
at ART initiation	260 (165–337)	260 (178–341)	0.913	
nadir	228 (142–275)	204 (132–265)	0.601	
wt/vit CCR5 phenotype	94 (92.2)	62 (87.3)	0.294	
Virus CCR5 co-receptor tropism	73 (71.6)	57 (80.3)	0.229	2.53 (1.05–6.11)

NA, not applicable; NS, not significant; wt/vit, homozygous wild-type.

<sup>a</sup>Continuous variables are expressed as median (IQR) and categorical variables are expressed as n (%).

<sup>b</sup>Only the OR and 95% CI of variables with independent predictive value are shown.

La relación entre los factores asociados con VBG se establece mediante análisis univariantes y multivariante. Vancoillie et al(67).

Adicionalmente, se cuantificaron los niveles de ADN viral intracelular, aunque limitado a 52 muestras (27 del grupo VBG y 25 del grupo control). Los resultados obtenidos revelaron una clara correlación entre mayores cargas de ADN al inicio del TAR y la aparición de VBG (p<0,001). A pesar de ello, el tamaño de la muestra fue demasiado bajo para incluir esta

variable en el análisis multivariado y, junto a ello, debemos añadir que la cuantificación de ADN viral no es una práctica llevada a cabo en la asistencia diaria.

En este sentido, trabajos anteriores también habían establecido relación entre la CVP en el momento de inicio del TAR y el riesgo de aparición de VBG(109,110). Sin embargo, Charpentier et al. no pudieron encontrar tal asociación, probablemente debido al bajo número de pacientes con VBG detectados en su estudio, pues de un total de 656 individuos, sólo 38 experimentaron VBG(111).

Nos detendremos ahora sobre otra de las asociaciones que ya puso de manifiesto el citado estudio belga (67), es decir, la posible relación entre la aparición de VBG con ciertos regímenes de TAR. Dicho trabajo liga el empleo de IP con la aparición de viremia de bajo grado. En consonancia con estos hallazgos, el grupo estadounidense citado en el epígrafe anterior (105) detectó que los participantes que recibieron un esquema con IP/r como tercer fármaco, frente a aquéllos que emplearon un ITINN tuvieron un riesgo 2,7 veces mayor de experimentar VBG (IC 95%: 1,4-5).

Del mismo modo, la cohorte suiza para el estudio del VIH analizó un total de 9.972 pacientes, de los que 179 desarrollaron VBG, y observó que, en comparación con el grupo control, los pacientes con VBG recibieron con mayor frecuencia de esquemas basados en IP no potenciados (OR 3,2; IC 95%: 1,8-5,9) o la combinación de 3 ITIAN (OR 2,1; IC 95%: 1,1-4,2), frente a los esquemas con ITINN(112). Por el contrario, el estudio de la ART-CC ya mencionado, no aprecia nexos entre los esquemas de TAR y la VBG(106).

Continuando en el plano que aborda la relación entre el TAR y la VBG, un trabajo reciente estudió, además de la relación entre los distintos regímenes, la adherencia al tratamiento como condicionante de VBG. Se trata de un subconjunto de pacientes procedente de una cohorte prospectiva de personas sin hogar de la ciudad de San Francisco (*REACH Adherence Monitoring Cohort*). Se incluyó a aquellos participantes que mantuvieron la supresión viral (CVP <50 copias/ml) durante al menos 3 meses. La adherencia se evaluó mensualmente mediante un sistema de recuento de pastillas no anunciado. Como rango de VBG se estableció una CVP de entre 50 y 1.000 copias/ml. En el análisis multivariante, el menor grado de adherencia al TAR se asoció con un riesgo mayor de VBG (HR 1,1; p=0,05). También se detectó mayor riesgo de VBG para los regímenes con IP e IP/r en comparación

con los de los ITINN (HR 3;  $p < 0,05$ ). Por otro lado, no se detectó interacción entre el régimen de TAR y la adherencia, y no se observaron diferencias consistentes en el grado de adherencia entre los participantes tratados con regímenes basados en IP o ITINN(113).

El deterioro de la función inmunológica también se ha relacionado con la aparición de VBG. Así, una investigación australiana detectó que un menor *nadir* de células T CD4+ se asociaba en el análisis univariante con la viremia de bajo grado, pero dicha asociación no se mantuvo tras la regresión múltiple(108); extremo que sí se aprecia en el trabajo de la cohorte suiza(112). Por su parte, Taiwo et al., recogen que por cada incremento de 50 células/mm<sup>3</sup> en el *nadir* de linfocitos T CD4+ existe un 10% menos de riesgo de desarrollar VBG (HR 0,9; IC 95%: 0,8-1,0)(105).

Por último, de forma anecdótica, podemos referir la asociación que detectó este mismo equipo australiano entre la VBG y el antecedente personal de diabetes mellitus tipo 2(108).

A pesar de la riqueza de resultados, debemos ser cautos en su interpretación, pues la mayoría de los estudios tuvieron un diseño de corte transversal y/o retrospectivo, en algunos casos con pequeños tamaños muestrales, o bien emplearon un número limitado de mediciones de CVP para clasificar a los pacientes como VBG. Esto unido a las diferencias en los criterios aplicados para definir la viremia de bajo grado, dificulta la comparación de los mismos y la extrapolación de sus conclusiones.

#### **E.2.4 Consecuencias**

Conocer cuáles son los determinantes de la VBG es importante de cara a predecir o comprender su aparición, a pesar de ello, la preocupación actual sobre el tema reside, sobre todo, en el temor a sus posibles consecuencias deletéreas. Al igual que en epígrafes anteriores, hoy en día, disponemos de un número cada vez mayor de trabajos que aportan novedades al respecto.

De esta forma, existen estudios que la relacionan con un mayor riesgo de fracaso virológico, progresión de la enfermedad, aparición de resistencias al TAR, deterioro del estado inmunológico del paciente y con la persistencia de inflamación.

#### *E.2.4.1 Fracaso virológico*

Una reciente publicación española, evaluó el riesgo de FV en aquellos pacientes con VBG(114). Para ello, se empleó una cohorte prospectiva de adultos infectados por el VIH, que cumplían TAR y habían alcanzado la supresión viral con CVP inferiores a 25 copias/ml durante, al menos, 6 meses. Se definió VBG como CVP 25-1.000 copias/ml. Los sujetos se incluyeron entre enero de 2011 y enero de 2013, y se monitorizaron hasta el FV o el final del seguimiento en junio de 2014. Trescientos de un total de 1.733 (17,3%) pacientes con viremia indetectable mostraron VBG estratificada en los siguientes grupos: 1) 25-50 copias/ml (167 pacientes); 2) 51-200 copias/ml (111 pacientes); y 3) 201-1.000 copias/ml (22 pacientes). Después de una media de seguimiento de 2,6 años, 23 (7,7%) pacientes presentaron FV. La VBG superior a 200 copias/ml (HR 59,6; IC95%: 15,7-227), la biterapia basada en IP/r (HR 10,2; IC95%: 2,1-49,8) y la monoterapia IP/r (HR 7,9; IC95%: 1,4-43,3) se asociaron independientemente con FV. La VBG persistente por debajo de 200 copias/ml no se asoció, de manera estadísticamente significativa, a un mayor riesgo de FV.

Con los resultados anteriores concuerdan las conclusiones de un importante estudio prospectivo realizado por el grupo *ART Cohort Collaboration*, que analizó datos de 18 cohortes en Europa y Norteamérica(106). Su objetivo fue evaluar el impacto pronóstico de los diferentes niveles de VBG (50-199 y 200-499 copias/ml) en los resultados clínicos (eventos de SIDA y muerte) y virológicos (FV) entre los pacientes infectados por VIH que recibían TAR. Los individuos incluidos fueron mayores de 16 años, con TAR de inicio posterior a 1996, con esquemas basados en dos ITIAN más un IP/r o un ITINN, y mantenido un mínimo de 6 meses y alcanzando una CVP suprimida (<50 copias/ml) en los 3-9 meses tras inicio de la terapia.

Los autores definen VBG50-199 como, al menos, dos o más CVP consecutivas entre 50 y 199 copias/ml determinadas con un mínimo de 1 mes de separación; y VBG200-499 dos o más CVP consecutivas entre 50 y 499 copias/ml registradas con, al menos, 1 mes de separación y, como mínimo, una determinación entre 200 y 499 copias/ml, siempre después de la supresión virológica (para ambos grupos). Siguiendo estas definiciones, para fines analíticos, los individuos se clasificaron en tres grupos: sin VBG, VBG50-199 y VBG200-499. La variable principal del estudio fue la aparición de eventos clínicos (primer evento de SIDA o muerte). La variable secundaria fue la aparición de FV, definido como al menos dos

cargas virales consecutivas superiores a 500 copias/ml o una CVP superior a 500 copias/ml, seguida de modificación del TAR.

El trabajo incluyó 17.902 pacientes, 624 (3,5%) se incluyeron en el grupo VBG50-199 y 482 (2,7%) en el VBG200-499. Durante el seguimiento, 1.903 pacientes (10,6%) experimentaron FV [1745 (10,4%) entre los 16.796 pacientes sin VBG, 49 (7,9%) entre los 624 pacientes con VBG50-199 y 109 (22,6%) entre 482 pacientes con VBG200-499]. Sobre la base de las estimaciones de Kaplan-Meier, el tiempo durante el cual el 90% de los pacientes permanecieron libres de fracaso virológico fue de 2,8 años (IC95%: 2,6-3,0) para pacientes sin VBG; 2,2 años (IC95%: 1,1-3,5) para pacientes con VBG50-199 ( $p=0,160$  comparando con pacientes sin VBG); y 1,1 años (IC95%: 0,3-1,9) para pacientes con VBG200-499 ( $p<0,001$  en comparación con pacientes sin VBG). Tanto antes como después de ajustar el análisis a las características de los pacientes al comienzo del TAR, VBG200-499 se asoció fuertemente con FV (HR 3,97; IC95%: 3,05-5,17), cosa que no ocurrió con el grupo VBG50-199.

Las conclusiones anteriores se ven reforzadas por los trabajos de una cohorte sueca con diseño muy similar(107); así como el de un centro hospitalario portugués(115). En el primer caso, la VBG200-999 copias/ml se asoció con FV (HR 3,14; IC95%: 1,41-7,03;  $p<0,01$ ), mientras que la VBG50-199 copias/ml no lo estuvo (HR 1,01; IC95%: 0,34-4,31;  $p=0,99$ ). El segundo se trata de un estudio retrospectivo que incluyó pacientes con buena adherencia al TAR, durante un mínimo de 6 meses, en el que definieron VBG como un rango de 20-200 copias/ml. Ellos no hallaron relación significativa entre el FV y ese intervalo de viremia.

En el mismo año de publicación de la *ART Cohort Collaboration*, se dio a conocer un estudio europeo muy similar basado en la cohorte prospectiva *ANRS-CO3 Aquitaine*, que incluía 2.374 pacientes con una mediana de seguimiento de 3 años, de los cuales 205 (8,6%) experimentaron VBG(116). Ésta se definió como dos o más CVP consecutivas de entre 50 y 199 copias/ml, con más de un mes de separación entre ambas; el FV se consideró como la detección de 2 CVP consecutivas  $\geq 200$  copias/ml o una sola seguida por modificación del TAR. La VBG se asoció fuertemente con FV (HR 2,3; IC95%: 1,7-3,2). No obstante, cuando se aplicaron análisis de sensibilidad restringidos a los pacientes que no habían recibido TAR previamente, la VBG no se asoció con FV (HR 0,82; IC95%: 0,36-1,96). Por el contrario, la

VBG sí se asoció con el FV en pacientes con TAR previo (HR 3,02; IC95%: 2,10-4,33). Este último dato concuerda con el presentado por la publicación previa.

Otro trabajo canadiense que también estratifica la VBG en distintos grupos (<50, 50-199, 200-499, y 500-999 copias/ml), mide la incidencia acumulada de FV, definido como una determinación de CVP superior a 1.000 copias/ml, en pacientes que recibían TAR durante, al menos, 12 meses. La incidencia acumulada de FV un año después de haber mantenido una VBG durante al menos 6 meses fue del 22,7% (IC95%: 14,9-33,6) para 50-199 copias/ml; 24,2% (IC95%: 14,5-38,6) para 200-499 copias/mL; y 58,9% (IC95%: 43,1-75,2) para 500-999 copias/mL, comparado con el 6,6% (IC95%: 5,3-8,2) para una carga viral indetectable. Incluso después de realizar los ajustes pertinentes para evitar posibles factores de confusión, una VBG persistente de 50-199 copias/ml durante 6 meses duplicó el riesgo de FV (HR 2,22; IC95%: 1,60-3,09), en comparación con cargas virales indetectables durante el mismo período. Los resultados fueron similares en el caso de la VBG persistente durante 9 y 12 meses(117).

Los resultados comentados que relacionan la VBG con el desarrollo posterior de FV, también se ven recogidos en estudios previos con carácter retrospectivo. No obstante, en estos encontraremos mayor variabilidad en cuanto a los rangos de CVP establecidos. Así, en la cohorte suiza se acepta VBG como 21-400 copias/ml(112); mientras que una colaboración de ésta con la cohorte de Frankfurt y publicación española lo fijan en 51-500 copias/ml(68)(104).

#### *E.2.4.2 Progresión de la enfermedad (mortalidad, eventos SIDA y no SIDA)*

En el trabajo ya mencionado del grupo *ART Cohort Collaboration*, 480 (2,7%) pacientes murieron [432 (2,6%) entre aquellos sin VBG, 24 (3,8%) en el grupo VBG50-199, y 24 (5%) en el grupo VBG200-499]. Además, 532 (3%) pacientes experimentaron al menos un evento de SIDA posterior al inicio del TAR. Empleando el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier, el tiempo durante el cual el 90% de los pacientes permanecieron libres de eventos clínicos (evento combinado SIDA/muerte) no fue diferente entre los tres grupos. Tampoco en el análisis multivariado se encontró asociación entre los distintos grupos con eventos SIDA/muerte(106). Junto a ello, en la cohorte sueca citada en el epígrafe anterior, los pacientes con VBG tuvieron tasas más altas de mortalidad por cualquier causa, aunque esta asociación no alcanzó la significación estadística en el análisis multivariado(107).

En contraposición, encontramos un estudio retrospectivo elaborado a partir de los pacientes de la cohorte italiana MASTER, cuyo objetivo fue investigar la asociación entre la VBG, medida como copias-año, y la mortalidad por cualquier causa(118). Merece la pena destacar que, para evaluar el impacto en términos de mortalidad de la VBG, la mayoría de los estudios han determinado la CVP al inicio del estudio y, después, de forma puntual periódica. Sólo unos pocos trabajos han utilizado este enfoque de considerar el análisis de la viremia acumulada durante toda la vida.

La viremia en copias-año se definió como el área bajo la curva individual de CVP, asumiendo un supuesto de linealidad entre dos medidas consecutivas de CVP, expresada en forma logarítmica. Para el análisis, se realizó una estratificación temporal de la viremia en tres grupos: viremia copias-año general (desde el inicio del TAR hasta el final de seguimiento), viremia copias-año en los 8 primeros meses, y viremia copias-año tras más de 8 meses de seguimiento. Se tomó el octavo mes como punto de corte, ya que esperaban que los pacientes alcanzasen una carga viral indetectable después de 6-8 meses de tratamiento. No se tuvieron en cuenta las muertes ocurridas durante los primeros 8 meses después de comenzar el TAR, ya que, según los autores, probablemente se trataría de muertes relacionadas con una enfermedad grave en el momento del diagnóstico del VIH.

Se enroló un total de 3.271 pacientes (72,1% varones, edad media de 39,8 años). Cuando se compararon los sujetos con supresión viral permanente tras el octavo mes desde el inicio del TAR, frente a aquellos que tras 8 meses presentaban una viremia copias-año  $\geq 3 \log_{10}$ , la mortalidad aumentó en un 70% y en, aproximadamente, 20 veces para los que tenían una viremia copias-año  $\geq 2,3 \log_{10}$ . Los pacientes que mantuvieron niveles de viremia por debajo de los niveles mencionados presentaron un riesgo de muerte similar al de los pacientes con CVP suprimida permanentemente.

Cabe destacar que, desde la introducción del TAR, los eventos no SIDA (ENOS) se han convertido en las principales causas de morbimortalidad en las personas infectadas por el VIH(119). Del creciente interés por los mismos, cabe destacar la ingente producción científica llevada a cabo en el seno de CoRIS(120–124).

Algunos estudios también han buscado nexos entre la VBG y el desarrollo de eventos no SIDA. Entre ellos, destacamos una cohorte holandesa de 6.440 pacientes que recibían TAR y habían alcanzado la supresión viral (<50 copias/ml) dentro de las 48 primeras semanas tras iniciar la terapia. Este trabajo definió VBG como el rango de 50-400 copias/ml. En comparación con la supresión viral, la CVP superior a 400 copias/ml se asoció con mayor desarrollo de enfermedad cardiovascular (RR 1,37; IC95% 1,04-1,81), mientras que la VBG y los «blips» no se asociaron con enfermedades no relacionadas con el SIDA(125).

#### *E.2.4.3 Adquisición de nuevas resistencias a fármacos*

Otro de los debates derivados de la incertidumbre que rodea a la VBG es su posible implicación en la génesis de resistencias a los fármacos antirretrovirales, cuestión que no resulta menor, pues ciertos autores la han relacionado directamente con el FV en este grupo de pacientes(126,127).

En los últimos años, diversos trabajos han intentado aportar algo de luz. Entre ellos, destacaremos varios. En primer lugar, merece la pena citar la investigación realizada a partir de la cohorte prospectiva SCOPE (Universidad de California)(128). La VBG se definió como una CVP inferior a 1.000 copias/ml. La mayoría de los participantes (89%) ya seguían TAR al inicio del estudio, y la viremia media de los episodios de VBG fue de 267 copias/ml. Comparado con el perfil de resistencias en el momento de inicio, el 46% de las muestras con VBG tenían una nueva mutación de resistencia al esquema de TAR vigente del participante. De los que estaban en un régimen basado en IP, el 57% tenía resistencia detectable a ITIAN, y el 45% tenía resistencia a IP en la primera muestra de VBG. Para aquellos con un régimen basado en ITINN, 20% tenían resistencia detectable a ITIAN y 33% tenían resistencia ITINN. En los pacientes con dos o más episodios de VBG a lo largo del seguimiento, se encontró que un 44% habían acumulado mutaciones de resistencia adicionales y en 3 de los participantes, la nueva mutación dio como resultado una disminución en el número de fármacos totalmente activos.

Previamente, el estudio retrospectivo de Delaugerre et al. también había asociado la VBG con la aparición de mutaciones de resistencia(129). En esta ocasión, la VBG se definió como una CVP entre 40-500 copias/ml determinada en un mínimo de 3 ocasiones en un período de 6 meses o más. La prueba genotípica de resistencia se realizó al inicio y al final del período de VBG. Incluyó un total de 48 pacientes (4 sin tratamiento previo y 44 pretratados durante

una media de 9 años), que presentaron un episodio de VBG con una media de 11 meses de duración. La CVP media durante la VBG fue de 134 copias/ml. Se realizaron pruebas de resistencia con éxito, tanto en el inicio como al final del episodio de VBG, en 37 pacientes (77%), de los cuales 11 (30%) adquirieron al menos 1 mutación de resistencia durante el período de VBG (6 para ITIAN, 1 para ITINN, 4 para IP y 2 para IN). Además, durante el período de VBG, el número de fármacos con resistencia genotípica aumentó desde una media de 4,5 a 6 fármacos. La duración y el nivel de CVP durante el episodio de VBG, la duración del TAR previo, el recuento de linfocitos T CD4+ actual y *nadir*, el número basal de mutaciones de resistencia y la escala de sensibilidad genotípica no se identificaron como factores predictivos de adquisición de resistencia durante el episodio de VBG.

Muy similares son los resultados de otro análisis retrospectivo, de una cohorte estadounidense que definió la VBG como una CVP 50-1.000 copias/ml en, al menos, 2 determinaciones en un período de 24 semanas, después un mínimo de 24 semanas de TAR(105). Se realizaron test de resistencias, antes del tratamiento y durante la VBG, en 54 participantes y se detectaron nuevas mutaciones de resistencia durante la VBG en 20 (37%) de estos participantes. Catorce participantes tuvieron nuevas mutaciones de resistencia en la primera muestra extraída durante la VBG; de éstos, 3 acumularon mutaciones adicionales posteriormente. El FV (>1.000 copias/ml) después de la VBG ocurrió con mayor frecuencia en los participantes con nuevas mutaciones (30% frente a 9%,  $p=0,05$ ).

Junto a ello, el nivel de CVP durante la VBG fue un factor independientemente asociado con la nueva resistencia. Los participantes en los que se detectaron nuevas mutaciones presentaron tendencia a una mayor CVP media durante la VBG ( $p<0,001$ ). No se detectaron nuevas mutaciones en los participantes con CVP máxima 51-100 copias/ml, en comparación con en aquellos con CVP máxima de 101-200 copias/ml y con quienes presentaron una CVP máxima superior a 200 copias/ml. La CVP permanentemente inferior o igual a 50 copias/ml se demostró un factor protector de nuevas mutaciones ( $p=0,006$ )(105).

Otro trabajo de origen francés se ha centrado en la aparición de resistencia a los inhibidores de la integrasa en pacientes con VBG(130). Para ello analizaron muestras plasmáticas de 49 pacientes que experimentaron, al menos, un episodio de VBG (50-500 copias/ml) mientras eran tratados con raltegravir. Los pacientes elegibles ya cumplían TAR, pero nunca con un INSTI previo y habían recibido el mismo esquema basado en enfuvirtida, con CVP por

debajo de 400 copias/ml durante un mínimo de 3 meses. Los pacientes fueron aleatorizados para mantener su régimen basado en enfuvirtida o un cambio a raltegravir en combinación con el mismo régimen de fondo. Los pacientes en el brazo de enfuvirtida podían cambiar a raltegravir en la semana 24.

De los 170 pacientes, 49 (29%) tuvieron al menos un episodio de VBG mientras recibían raltegravir, incluidos 32 en el brazo inicial y 17 en el brazo de enfuvirtida que cambiaron a raltegravir después de la semana 24. Además, 19 de 84 pacientes (23%) experimentaron al menos un episodio de VBG mientras recibían enfuvirtida, incluidos 10 que también experimentaron VBG después de cambiar a raltegravir. El 39% tuvo más de un episodio de viremia de bajo grado. La media de la CVP durante los episodios de viremia de bajo nivel fue de 100 copias/ml. La secuenciación del gen de la integrasa se logró con éxito en muestras de 39 pacientes. De éstos, 3 (7,7%, IC95%: 1,6-20,9) tenían mutaciones asociadas a la resistencia a INSTI. Además, la ausencia de estas mutaciones a partir del ADN proviral sugirió que la selección de resistencias se produjo durante los episodios de VBG. La adherencia al tratamiento fue alta en todos los pacientes mientras recibían TAR que contenía raltegravir, incluso para aquellos en quienes se encontraron mutaciones de resistencia. Los autores concluyen que los episodios de VBG en pacientes tratados con raltegravir pueden estar asociados con la aparición de mutaciones de resistencia a esta familia terapéutica.

También resultan interesantes los resultados de un trabajo británico que caracterizó la prevalencia y los patrones de mutaciones según los niveles de CVP en una gran población de pacientes (3.791) con infección por VIH, que se sometieron a pruebas de detección de mutaciones en la práctica clínica habitual(131). Curiosamente, entre las 7.861 pruebas realizadas, la detección de una o más mutaciones fue más frecuente con CVP 300-10.000 copias/ml y disminuyó de manera estadísticamente significativamente para CVP superiores 10.000 copias/ml. Además, las principales mutaciones de resistencia se detectaron de forma común en el subgrupo de pruebas que se realizaron en pacientes CVP <1.000 copias/ml (tabla I.E.2.4.3).

Tabla I.E.2.4.3. Proporción de mutaciones de resistencia según estratos de CVP.

Viral load, copies/mL	All patients			Patients receiving NRTIs			Patients receiving NNRTIs			Patients receiving PIs		
	<i>n</i>	Any resistance mutation	RR (95% CI)	<i>n</i>	NRTI resistance mutation	RR (95% CI)	<i>n</i>	NNRTI resistance mutation	RR (95% CI)	<i>n</i>	PI resistance mutation	RR (95% CI)
<300	449	270 (60)	0.94 (0.87–1.01)	410	219 (53)	0.89 (0.81–0.98)	126	61 (48)	0.85 (0.72–1.00)	193	55 (29)	0.85 (0.70–1.04)
300–999	552	399 (72)	0.99 (0.94–1.04)	508	345 (68)	1.01 (0.94–1.07)	161	124 (77)	1.04 (0.94–1.15)	237	90 (38)	1.00 (0.87–1.16)
1000–2999	1119	851 (76)	1	994	712 (72)	1	315	247 (78)	1	423	182 (43)	1
3000–9999	1311	1014 (77)	1.01 (0.97–1.05)	1135	850 (75)	1.01 (0.96–1.06)	363	281 (77)	1.01 (0.94–1.09)	483	224 (46)	0.89 (0.79–1.01)
10,000–29,999	1323	892 (67)	0.91 (0.87–0.95)	1003	700 (70)	0.92 (0.88–0.97)	298	220 (74)	0.96 (0.88–1.04)	454	199 (44)	0.87 (0.77–0.99)
30,000–99,999	1433	862 (60)	0.84 (0.80–0.88)	1014	595 (59)	0.79 (0.74–0.84)	282	170 (60)	0.82 (0.74–0.92)	462	192 (42)	0.85 (0.75–0.96)
≥100,000	1674	811 (48)	0.69 (0.65–0.74)	1076	482 (45)	0.61 (0.57–0.66)	319	155 (49)	0.67 (0.59–0.76)	507	157 (31)	0.64 (0.55–0.75)

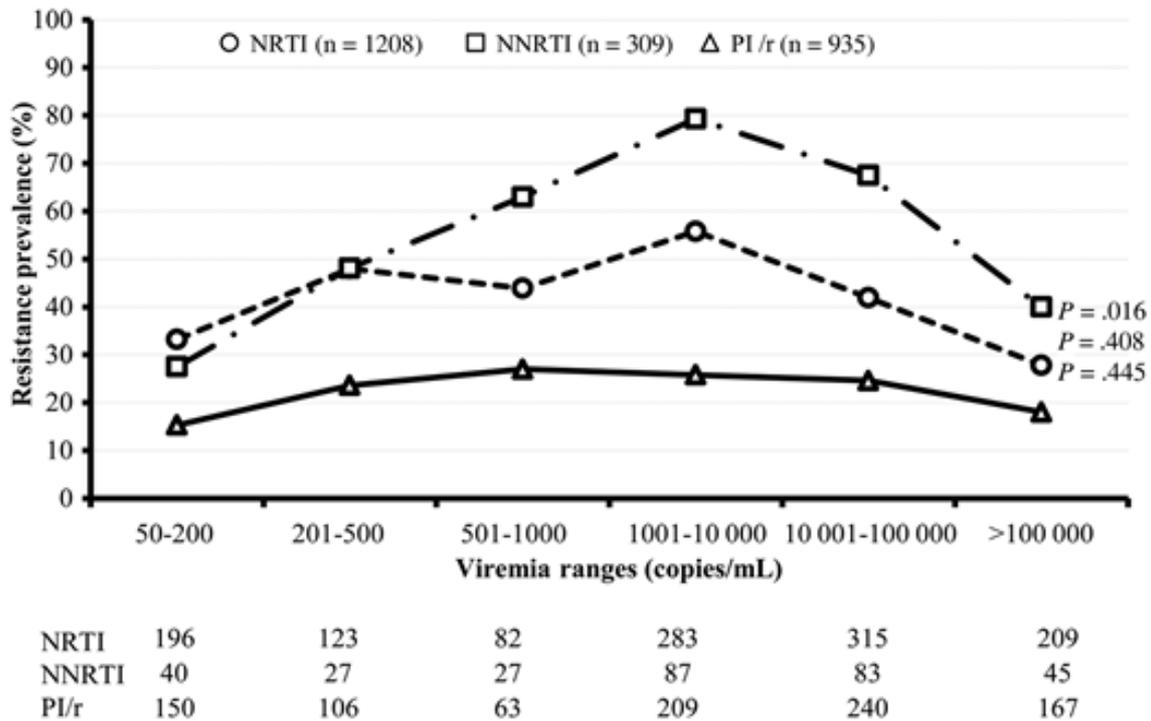
Los datos relativos a las pruebas de resistencia se muestran como frecuencia y porcentaje. Mackie et al(131).

Sin embargo, cuando se realizó el análisis para correlacionar el número total de mutaciones detectadas en función de la CVP, en general, no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Mencionaremos en último lugar, un análisis italiano inicialmente dirigido a proporcionar datos sobre la fiabilidad de las pruebas de resistencias realizadas cuando las CVP son inferiores a 500-1.000 copias/ml, que también evalúa si los diferentes niveles de viremia afectan la detección de la resistencia. Para ello, analiza retrospectivamente 13.926 muestras de plasma de personas infectadas, centrándose en aquellas muestras con CVP superior a 50 copias/ml (12.828), que se estratificaron en 6 grupos de acuerdo con diferentes rangos de viremia (copias/ml): 50-200, 201-500, 501-1.000, 1.001-10.000, 10.001-100.000 y >100.000.

La resistencia a una clase de fármacos se definió por la presencia de, al menos, una mutación de resistencia primaria incluida en la lista de mutaciones presentada por la *International Antiviral Society* en 2013. Tras la estratificación, la prevalencia de resistencias (agrupando al conjunto de las familias de TAR) fue la siguiente: 50-200 copias/ml = 52,8%; 201-500 = 70%; 501-1.000 = 74%; 1.001-10.000 = 86,1%; 10.001-100.000 = 76,7%; y >100.000 = 63% ( $p < 0,001$ ). Cuando analizamos por clases terapéuticas, se observan resultados interesantes, pues en viremias de 50-200 copias/ml, la resistencia a ITIAN fue del 41,3%, la resistencia a los ITIN del 40,2%, a IP del 51,6% y a IP/r del 20,8%. Para la viremia de 201-500 copias/ml, las tasas de resistencia fueron 62,3%, 69,3%, 30,8% y 28,0% respectivamente, alcanzando significación estadística en ciertos casos, como se aprecia en la figura I.E.2.4.3.

Figura I.E.2.4.3. Resistencias estratificadas según viremia y familias terapéuticas.



Santoro et al(132).

#### E.2.4.4 Deterioro inmunológico

Ciertos autores han sugerido que la viremia de bajo grado, entendida como una CVP inferior a 1.000 copias/ml, se asocia con cifras estables de linfocitos T CD4+ superiores a pacientes no controlados, pero dicha ganancia tiende a ser menos consistente que la observada en aquellos individuos que alcanzan la supresión virológica sostenida. Éstas fueron las conclusiones alcanzadas tras analizar una cohorte estadounidense de 423 pacientes infectados por el VIH, que iniciaron TAR y en los que se monitorizó la cifra de linfocitos T CD4+ a lo largo del tiempo de seguimiento(133). Sin embargo, este diseño con un rango tan amplio a la hora de considerar los pacientes con VBG y el hecho de que los pacientes partiesen de una ausencia de TAR resta validez externa a sus conclusiones, si queremos compararlo con los trabajos más recientes sobre VBG que incluyen sujetos en supresión virológica.

Por su parte, un estudio longitudinal con pacientes tratados procedentes de la cohorte SCOPE, cuya función inmunitaria fue valorada mediante la respuesta específica de los linfocitos T frente al VIH, la activación de los linfocitos T (definida como la expresión conjunta de CD38 y HLA-DR) –medida que se ha asociado de manera independiente con la depleción de células T CD4+–; así como la producción de interferón gamma(134). Para este

análisis, se seleccionaron individuos que habían recibido, antes de la entrada al estudio, TAR durante más de 1 año y cuyas determinaciones de CVP durante ese período fueron <1.000 copias/ml de manera continua. Los sujetos se clasificaron en tres grupos en función de sus resultados virológicos antes del ingreso al estudio y durante el período de observación de 1 año: 1) supresión viral sostenida (todas las CVP por debajo del límite cuantificación; n=13), 2) VBG intermitente (episodios infrecuentes, menos del 50% de todas las determinaciones, de CVP entre 50-1000 copias/ml; n=15) y 3) VBG persistente (episodios frecuentes, más del 50% de todas las determinaciones, de CVP entre 50-1.000 copias/ml; n=18).

De los 46 sujetos que cumplieron los criterios de inclusión, 13 presentaron supresión viral sostenida, 15 VBG intermitente y 18 VBG persistente antes de la primera visita. Aquellos con supresión viral sostenida tuvieron mayores recuentos de células T CD4+ en el momento de inicio del estudio que los pacientes con VBG intermitente ( $p=0,01$ ) o VBG persistente ( $p=0,01$ ); el recuento de linfocitos T CD4+ entre el segundo y tercer grupo no difirió significativamente ( $p=0,93$ ). La magnitud de la respuesta de los linfocitos T específicos fue mayor en pacientes con VBG persistente que en pacientes con viremia suprimida (12 veces mayor,  $p<0,001$ ); mientras que no hubo diferencias significativas en cuanto a la magnitud de la respuesta inmune específica entre pacientes con VBG intermitente y aquellos con VBG persistente ( $p=0,64$ ). Junto a ello, la frecuencia de células T CD8+ activadas (HLA-DR+CD38+) entre individuos con viremia suprimida fue del 6% (RIC 5-10%), cifra similar a la observada en individuos con VBG intermitente (9%; RIC 6-14%;  $p=0,41$ ; n=13); pero menor que la detectada en individuos con VBG persistente (16%; RIC 11-21%;  $P=0,02$ ; n=16). En cuanto a la producción de interferón gamma, en comparación con los pacientes con viremia suprimida, los pacientes con VBG intermitente o persistente mostraron una mayor amplitud de respuestas ( $p<0,001$  para supresión vs. VBG intermitente, y  $p<0,001$  para supresión vs. VBG persistente). No hubo diferencias significativas en la amplitud de la respuesta inmune específica del VIH entre pacientes con VBG intermitente frente a VBG persistente ( $p=0,81$ ).

Ahondando en la afectación de la respuesta inmune, nos encontramos también con la publicación de Zhang et al., muy interesante, porque acota mejor los rangos de VBG(135). Examina un total de 3.321 pacientes de la cohorte holandesa ATHENA, que alcanzaron la supresión virológica (CVP <50 copias/ml) tras 24 semanas de TAR. La asociación entre episodios posteriores de VBG (50-400 copias/ml) o viremia de alto nivel (>400 copias/ml)

y los resultados muerte, SIDA o respuesta inmunológica (definida como el incremento del recuento de linfocitos T CD4+ igual o mayor al 50% a partir de la semana 24) fue estudiada aplicando modelos de incidencia acumulada. La viremia >400 copias/ml únicamente se asoció con carácter negativo a la respuesta inmunológica (RR 0,55; IC95%: 0,40-0,74), mientras que la VBG (50-400 copias/ml) no se asoció con ninguno de los tres resultados.

Finalmente, el estudio portugués comentado en apartados anteriores tampoco apreció diferencias inmunológicas entre aquellos pacientes que experimentaron VBG (20-200 copias/ml) y quienes mantuvieron la supresión virológica(115).

#### *E.2.4.5 Inflamación y estrés oxidativo*

La infección y depleción de las células T CD4+ representan uno de los eventos más importantes en la patogenia de la infección por VIH. Sin embargo, en los últimos años, el papel desempeñado por la inflamación y el estrés oxidativo se ha vuelto progresivamente más relevante. En este sentido, se han documentado un aumento de los biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo en pacientes infectados por el VIH en comparación con los controles sanos(136,137).

A este papel teórico se ha sumado la evidencia de diversos estudios clínicos. En cuanto al estrés oxidativo, la información era escasa hasta la publicación de un trabajo español, elaborado en el seno de la Cohorte de la Red Española de Investigación del SIDA (CoRIS)(138). Este estudio de casos y controles, vino a demostrar que el estrés oxidativo (evaluado mediante diversos biomarcadores) constituye un predictor adicional de mortalidad, independiente de otros factores asociados a la infección, como el recuento de linfocitos T CD4+, la CVP y la propia inflamación.

Otro estudio europeo de la cohorte italiana MASTER ha sido el primero en relacionar los valores aumentados de la ratio neutrófilos/linfocito y plaquetas/linfocito, dos sencillos y reconocidos marcadores de inflamación, con la mortalidad por cualquier causa en personas infectadas por el VIH, independientemente del nivel de linfocitos T CD4+ y otros factores de riesgo de mortalidad(139).

En los pacientes que experimentan VBG, la respuesta inflamatoria también podría jugar un papel destacado. En este sentido, destacamos un trabajo norteamericano que analiza la

relación entre la VBG con diversos marcadores de inflamación (PCR, citokina proinflamatoria IL-6 y el fibrinógeno)(140). Para ello examinaron un grupo de 1.116 pacientes procedentes del estudio FRAM (*Fat Redistribution and Metabolic Change in HIV infection*)(141), que fueron estratificados según su CVP en 1) 0 copias/ml, 2) 1-19 copias/ml, 3) 20-399 copias/ml, 4) 400-10.000 copias/ml, y 5)  $\geq 10,000$  copias/ml). Atendiendo a los resultados, la PCR tuvo nula relación con los distintos niveles analizados de CVP. Las categorías de CVP por debajo de 10.000 copias/ml presentaron niveles similares de IL-6 en comparación con la CVP indetectable, mientras que la CVP  $\geq 10,000$  copias/ml se asoció con un incremento del 89% ( $p < 0,001$ ). Esta asociación se atenuó tras ajuste según el recuento de células T CD4+. Por otro lado, una CVP más elevada se asoció con determinaciones mayores de fibrinógeno. En comparación con el grupo de CVP indetectable, el incremento de los niveles de fibrinógeno fue, respectivamente, del 0,6%, 1,9%, 4,5%, 4,6% y 9,4% en las diferentes categorías de CVP; resultando estadísticamente significativo en el nivel más alto ( $p = 0,0002$  para CVP  $\geq 10,000$  copias/ml). Por consiguiente, no parece existir relación en los niveles de inflamación y la VBG.

Otros autores que han investigado esta relación, han concluido que la persistencia de inflamación en personas infectadas y VBG no se debe a la viremia en sí, sino a otros fenómenos intercurrente como podrían ser la translocación bacteriana que tiene lugar en este subgrupo de pacientes(142).

No obstante, estos hallazgos entran en contradicción con las deducciones realizadas a partir de trabajos previos, que sugerían la presencia de inflamación a pesar de tener CVP indetectable. En un pequeño estudio, los controladores de élite tenían niveles más altos de PCR que los controles no infectados por el VIH(143). En el ensayo SMART(144), los niveles de PCR, IL-6 y dímero D permanecieron elevados en personas con infección por VIH, incluso después de alcanzada la supresión virológica con TAR. El ensayo SMART también mostró que la IL-6 y el dímero D se asociaron con mayor mortalidad, incluso en adultos infectados que lograron la supresión viral(145). Estos estudios utilizaron técnicas de medición de CVP con un umbral de detección de 75 copias/ml(143) y 400 copias/ml(145). No obstante, estas investigaciones no se diseñaron específicamente para evaluar la relación entre VBG y los niveles de inflamación, de ahí que cualquier conclusión extraída de los mismo ha de hacerse de manera cautelosa.

\* \* \*

Alcanzado este punto, disponemos de un volumen considerable de información relativa a las posibles implicaciones clínicas de la VBG. Sin embargo, la variabilidad en cuanto a definiciones establecidas y a la metodología empleada, dificultan que podamos comprender el impacto global de la misma, que sigue siendo en gran parte desconocido o controvertido. Como consecuencia, actualmente carecemos de consenso para guiar el manejo de dichos pacientes.

### **E.3 VIREMIA DE MUY BAJO GRADO**

Con la aparición de las técnicas más sensibles para la determinación de la CVP, algunas de las cuales son capaces de detectar hasta 1 copia/ml(146), se ha establecido el término de viremia de muy bajo grado (VMBG), definido como aquella carga viral cuantificable inferior a 50 copias/ml. Por tanto, se trata de pacientes que han alcanzado la supresión virológica según los criterios vigentes, pero mantienen cierto nivel de replicación viral.

Su frecuencia estimada varía mucho según los diversos trabajos publicados, describiendo así un rango que oscila entre 5 y el 65%(109,111,147,148). Recientemente, un grupo de investigadores intentó identificar las características clínicas asociadas a esta viremia residual esperanzados en proporcionar una mayor comprensión de los mecanismos virológicos implicados en la persistencia del VIH(104). Para ello utilizaron datos de los pacientes que se seleccionaron para la inclusión en el estudio A5244 del *AIDS Clinical Trial Group* (ACTG)(149). En dicho análisis se incluyó un total de 103 pacientes VIH con CVP superior a 100.000 copias/ml previa al inicio del TAR. La terapia se mantuvo durante un mínimo de 12 meses y para cumplir los criterios de inclusión, los sujetos debían mantenerse en supresión viral durante, al menos, 6 meses. Para la medición de la CVP se empleó una técnica de copia única y la duración media de la supresión viral fue de 4,8 años.

La VMBG se asoció a una edad más avanzada y a una supresión virológica inferior a 2 años. Entre las posibles explicaciones a estos hallazgos encontramos que las personas mayores pueden tener niveles más altos de activación inmune que, hipotéticamente, conducirían a una mayor liberación del virus desde sus reservorios(39). No obstante, en el estudio A5244 no se observó relación entre la edad y la activación linfocitaria, pero su tamaño muestral reducido pudo ser insuficiente para detectarla(149). Además, una edad más avanzada puede estar ligada a una respuesta inmune menos efectiva y, por tanto, una supresión menos eficiente del VIH.

No obstante, la asociación entre la VMBG y la edad avanzada no se observó en otro estudio previo(150).

Por otro lado, la correlación entre la VMBG y una supresión viral sostenida durante un período inferior a los 2 años podría explicarse por el tiempo a lo largo del cual se prolonga el declive del ARN viral, una vez iniciado el TAR. Tras unas etapas iniciales rápidas, sigue otra más lenta que puede prolongarse entre 60 y 110 semanas(151). Esto podría justificar la persistencia de cantidades residuales de CVP. De todas formas, el tamaño modesto de la cohorte no permite extraer conclusiones definitivas.

Una publicación previa con una cohorte notablemente mayor, aunque realizada empleando una técnica de PCR-RT con un umbral de detección de 20 copias/ml, también nos aporta resultados interesantes(109). Se trata de un trabajo francés con una cohorte prospectiva de pacientes que habían recibido TAR durante un mínimo de 1 año, sin modificación en los últimos 6 meses, y que tenían al menos dos mediciones de CVP inferiores a 50 copias/ml disponibles en el último año. Los 1.392 sujetos se clasificaron en tres grupos: CVP estrictamente indetectable (grupo 1), CVP detectable por debajo del umbral de detección, es decir, una señal inferior a 20 copias/ml (grupo 2); y CVP de 20-50 copias/ml (grupo 3).

El análisis mostró que la supresión viral durante más de 1 o 2 años, el cenit de CVP inferior a  $5 \log_{10}$  copias/ml y un TAR basado en ITINN se asociaron de forma independiente con una viremia estrictamente indetectable. El recuento de CD4+ inferior a 500 células/mm<sup>3</sup> únicamente se asoció al grupo 1 en su comparación con el grupo 2. Estos resultados concuerdan, en buena medida, con los del estudio previo. En cuanto a la influencia de los ITINN, los autores establecen un nexo con publicaciones previas que relacionan estos fármacos con un mejor control de la replicación viral frente a otros como los IP.

Por otro lado, encontramos el análisis de un subgrupo de 100 pacientes del ensayo Gilead 903 en el que se logró la supresión virológica sostenida después de 6 meses de TAR(152). Se trata de un ensayo clínico abierto, doble ciego y aleatorizado, que compara el efecto de tenofovir frente estavudina en combinación con efavirenz y lamivudina, en pacientes sin tratamiento previo. El umbral de detección de la técnica de medición de CVP era de 2,5 copias/ml. También se midieron los niveles de ADN viral. El 47% de los pacientes que recibieron tenofovir, en comparación con el 29% de los pacientes que recibieron estavudina,

presentaron viremia residual indetectable ( $p=0,07$ ). En el análisis multivariado, encontramos que los niveles más bajos de CVP al inicio, los niveles más bajos de ADN del VIH en las células mononucleares de sangre periférica y la inclusión en el brazo de tenofovir predecían independientemente la viremia residual indetectable o, dicho de otro modo, la ausencia de VMBG ( $p<0,05$ ).

En cuanto a sus implicaciones clínicas, diversos investigadores sugieren que la VMBG puede tener consecuencias importantes a largo plazo. En este sentido, un grupo británico la relacionan con un mayor riesgo de fracaso virológico(153). Su estudio investigó los resultados virológicos de 1.247 pacientes con CVP inferior a 50 copias/ml, nuevamente estableciendo tres grupos: CVP estrictamente indetectable, CVP menor de 40 copias/ml y CVP 40-49 copias/ml. La frecuencia de repunte virológico por encima de 50 y 400 copias/ml, respectivamente, fue de 4%, 11,3% y 34,2%; y 1,2%, 3,8% y 13%. Las diferencias observadas fueron estadísticamente significativas en todos los casos e independientes de otros determinantes. Igualmente, otros grupos han relacionado la VMBG con los «blips» y el FV(154)(155), incluso cuando los episodios de VMBG consisten en determinación únicas de CVP 20-50 copias/ml(156).

Por el contrario, otro estudio español más reciente y con elevado tamaño muestral no encuentra diferencias en cuanto a riesgo de FV en pacientes que permanecieron completamente suprimidos ( $<20$  copias/ml) frente a quienes experimentaron VMBG(157). Este grupo estudió un total de 4.289 individuos incluidos en la *VAHC Cohort*, que lograron una supresión viral efectiva (dos cargas virales consecutivas  $<50$  copias/ml) seguidas de supresión total (al menos una CVP  $<20$  copias/ml). Estas conclusiones concuerdan con los resultados del citado subanálisis del ensayo Gilead 903, en el que la VMBG no se asoció con cambios en el recuento de células CD4+ o riesgo de repunte virológico durante las 72 semanas de seguimiento(152). Igualmente, otro trabajo estadounidense afirma que la VMBG no necesariamente predice el FV y no debe generar revisiones clínicas más frecuentes o cambios en el régimen de TAR; no obstante el seguimiento realizado fue de 1 año(158). En la cohorte suiza tampoco se encontró relación entre la VMBG y el FV(112).

En otro plano, también se ha sugerido la relación de la VMBG con la presencia de inflamación sistémica persistente y la activación del sistema inmune, hecho que reviste gran importancia dado que ambas se han relacionado con la progresión de la enfermedad(159–

162). Resulta, en este sentido, interesante el análisis de un equipo francés de investigación que comparó dos grupos de 10 y 13 pacientes, respectivamente, uno con recuento bajo de células CD4+ (<200 células/mm<sup>3</sup>) a pesar de una respuesta virológica sostenida y un segundo con buena inmunidad (recuento de CD4+ >500 células/mm<sup>3</sup>). Todos los pacientes habían recibido TAR durante una media de 84 meses en el momento del análisis y habían mantenido una CVP indetectable (<50 copias/ml) durante todo el seguimiento. El método empleado para cuantificar la CVP tenía un umbral de 2,5 copias/ml. Se detectó VMBG (<50 copias/ml) en 8 de los 10 pacientes del primer grupo, y en sólo 5 de los 13 del segundo. Finalmente, tras emplear diversas técnicas de citometría de flujo y análisis molecular para caracterizar la respuesta inmune, la viremia residual se correlacionó con la activación persistente de células T CD4+ y CD8+ en aquellos pacientes del primer grupo(163).

Expertos del mismo país también analizaron la relación entre la VMBG (1-39 copias/ml) con la respuesta inmune. Su estudio transversal en 87 pacientes, tras la realización de análisis univariados y multivariados para identificar los determinantes de respuesta inmune inadecuada (cifra de linfocitos CD4+ inferior a 500 células/mm<sup>3</sup> tras iniciar TAR), concluye que la VMBG no se asocia a este fenómeno(164).

A modo de conclusión, en ausencia de datos definitivos, la VMBG es un fenómeno para tener presente pues podría condicionar la evolución de la infección por VIH; sin embargo, no es objeto de nuestro trabajo.

#### **E.4 REPUNTES TRANSITORIOS O «BLIPS»**

Entendemos como repunte transitorio de viremia o «blip» la determinación aislada de CVP por encima del límite superior de detección, precedida y seguida por una CVP indetectable. En función del documento o guía que consultemos el valor del «blip» en términos de CVP puede variar, aceptándose un amplio rango que oscila entre 50 y más de 1.000 copias/ml. Aunque se desconoce su prevalencia e incidencia reales, entre otros motivos, porque muchas veces se incluye indistintamente en los grupos de VBG, el trabajo de la *ART Cohort Collaboration* estima que aproximadamente el 20% de los pacientes infectados por VIH que reciben TAR experimentan repuntes transitorios de viremia(106), cifra similar al 27% de Sklar et al(165). Otros autores amplían esa cifra hasta valores que rondan el 80%(166).

Su naturaleza es incierta y diversas publicaciones los han relacionado con la liberación de copias del virus desde sus reservorios estables(167), diversas fases de la replicación(168) o cuestiones metodológicas de laboratorio(169,170). En cuanto a los factores relacionados con su aparición, han sido analizados en varios trabajos, de los cuales mencionaremos la cohorte colaborativa CANOC (*Canadian Observational Cohort*)(167) y cuyos resultados se resumen en la tabla 2.

Respecto a sus implicaciones clínicas, como en el caso de los conceptos abordados con anterioridad, nuevamente encontramos datos dispares. Por un lado, encontraremos numerosos autores que no hallaron asociación entre los «blips» y el fracaso virológico, inmunitario y/o el desarrollo de resistencias(68,70,134,165,168,171–173).

Tabla I.E.4. Factores relacionados con el desarrollo de «blips».

Covariate	Unadjusted Analysis		Adjusted Analysis	
	RR (95% CI)	P Value	RR (95% CI)	P Value
Age (per 10 years)	1.05 (.97–1.12)	.21	1.04 (.97–1.12)	.27
Male	0.83 (.68–1.02)	.07	0.91 (.74–1.11)	.33
Caucasian	1.11 (.89–1.38)	.34		
Risk factor				
MSM	1.30 (1.11–1.53)	<.01		
IDU	1.04 (.83–1.29)	.75		
Region				
Ontario	1.88 (1.63–2.17)	.0001	1.48 (1.17–1.87)	<.01
British Columbia/Quebec	1		1	
Type of cART				
Boosted PI-based	1.43 (1.22–1.67)	<.0001	1.35 (1.15–1.58)	<.001
Single PI-based	1.22 (.96–1.55)	.11	1.15 (.90–1.46)	.27
Other	1.37 (1.05–1.78)	.02	1.36 (1.05–1.75)	.02
NNRTI-based	1		1	
Year of cART initiation				
Prior to 2001	0.90 (.71–1.14)	.37	1.08 (.85–1.38)	.53
2001–2004	1.06 (.88–1.27)	.53	1.15 (.96–1.38)	.14
After 2004	1		1	
First VL suppression after year	1.09 (.90–1.33)	.37		
2005				
Hepatitis C coinfection	0.87 (.71–1.05)	.15		
Hepatitis B coinfection	0.86 (.71–1.06)	.16		
AIDS-defining illness	1.21 (1.00–1.45)	.05	1.11 (.92–1.34)	.27
CD4 count at cART initiation				
≥200 cells/μL	0.88 (.77–1.01)	.08		
CD4 (per 100 cells/μL)	0.94 (.90–.98)	<.01	0.97 (.92–1.01)	.16
VL at cART initiation				
≥10 <sup>7</sup> copies/mL	1.46 (1.27–1.68)	<.0001	1.41 (1.22–1.62)	<.0001
Log <sub>10</sub> copies/mL	1.23 (1.13–1.34)	<.0001		
No. of HIV RNA tests per year				
≤3	0.36 (.28–.47)	<.0001	0.31 (.24–.40)	<.0001
3–4	0.52 (.42–.63)	<.0001	0.44 (.35–.54)	<.0001
4–6	0.59 (.49–.70)	<.0001	0.53 (.44–.64)	<.0001
>6	1		1	
Assay				
Ultrasensitive Amplicor	0.56 (.49–.65)	<.0001	0.69 (.55–.88)	<.01
bDNA	1		1	

Abbreviations: bDNA, branched DNA; cART, combination antiretroviral therapy; CI, confidence interval; HIV, human immunodeficiency virus; MSM, men who have sex with men; IDU, injection drug user; NNRTI, nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor; PI, protease inhibitor; RR, rate ratio.

a All models were adjusted by number of HIV RNA tests per year.

b All covariate values were at the time of cART initiation.

Grennan et al.(167)

En contraposición a los resultados anteriores, un estudio español ha relacionado recientemente la aparición de FV con los «blips»(174). En él se incluyeron pacientes diagnosticados de infección por VIH entre 2004 y 2013, que iniciaron TAR y alcanzaron la supresión virológica. La cuantificación de la CVP se realizó mediante una técnica con umbral

de detección de 20 copias/ml. La cuantificación de la CVP se interpretó de la siguiente manera: detectable (>20 copias/ml); no detectable (ND); y detectable pero no cuantificable (<20 copias/ml) (DNC). Para el análisis posterior, los pacientes se asignaron a los siguientes grupos: 1) todas las determinaciones ND; 2) una o dos determinaciones DNC; 3) al menos tres episodios consecutivos de determinaciones de DNC; 4) episodios intermitentes de viremia de bajo grado (VBG-i), es decir, valores de CVP de 20-50 copias/ml precedidos y seguidos por viremia ND o DNC; y 5) «blips», es decir, valores de CVP de 50-200 copias/ml precedido y seguido por otro valor <50 copias/ml, de acuerdo con la definición de las directrices vigentes de GeSIDA. El FV se definió como CVP  $\geq$ 50 copias/ml en dos o más determinaciones consecutivas (GeSIDA).

Un total de 326 pacientes se incluyeron para el análisis con un tiempo medio de seguimiento de  $42 \pm 29$  meses. La frecuencia de «blips» fue del 22,7%. Los pacientes con «blips» [HR 2,5 (IC95%: 0,52-1,93),  $p=0,250$ ] y al menos tres determinaciones DNC de CVP [HR 3,813 (IC 95%: 0,67-21,53),  $p=0,130$ ] fueron más propensos a tener FV, aunque no alcanzaron la significación estadística.

En una línea similar, la cohorte CANOC y el subestudio APROVIR, de la cohorte prospectiva APROCO, relacionaron los «blips» superiores a 500 copias/ml con el desarrollo de FV, pero no con el desarrollo de resistencias(167,175). También el trabajo conjunto entre la cohorte de Frankfurt y la suiza encontró esta asociación (HR 2,01; IC95%: 1,51-2,91;  $p<0,0001$ )(104), así como un estudio multicéntrico londinense (HR 3,15; IC95%: 1,72-5,77;  $p<0,001$ )(176). La asociación con la adquisición de resistencias sí fue apreciada por investigadores de la Universidad de Toronto(177).

Al igual que en el caso de la VBG y la VMBG, apreciamos, si cabe con mayor claridad, que los datos son considerablemente dispares, resaltando la necesidad de nuevos estudios que aporten conclusiones fiables.

## **F. HIPÓTESIS ETIOPATOGÉNICAS RELATIVAS A LA VIREMIA DE BAJO GRADO**

Ya conocemos que los episodios de viremia de bajo grado ocurren comúnmente durante la terapia antirretroviral, que su aparición puede asociarse a varios factores virales o del huésped

y que puede relacionarse con ciertos efectos deletéreos. A continuación, centraremos nuestra atención en comprender los procesos que conducen al desarrollo de VBG.

### **F.1 ACTIVACIÓN DEL SISTEMA INMUNE, REPLICACIÓN PERSISTENTE EN LOS RESERVORIOS VIRALES Y LIBERACIÓN DE PARTÍCULAS VIRALES PROCEDENTES DE CÉLULAS EN ESTADO DE LATENCIA**

Es conocido que la activación crónica del sistema inmune inducida por la infección del VIH y la existencia de reservorios virales pueden contribuir a la morbimortalidad de estos pacientes(178).

La relación entre la VBG y la activación inmune ha sido explorada en varias publicaciones, existiendo la idea general de que la primera se asocia con la activación inmunitaria persistente(179). En este sentido, merece la pena destacar el ya citado estudio longitudinal de la cohorte SCOPE(134); así como un nuevo análisis elaborado a partir de 4 estudios del *AIDS Clinical Trials Group* (ACTG)(180). En él se estudiaron muestras de sangre de 833 pacientes infectados por el VIH que cumplieron TAR, durante un mínimo de 96 semanas. Se observó que la activación de las células T CD8+ (evaluada mediante la coexpresión HLD-DR/CD38+) fue mayor cuando la CVP fue de 51-200 copias/ml frente a  $\leq 50$  copias/ml (23,4% vs. 19,7%; IC 95%: 0,1-3,4;  $p=0,042$ ). Únicamente dos trabajos(181,182), entre los evaluados, ofrecen datos que desliguen la activación inmunitaria de la aparición de viremia de bajo grado.

En cuanto a la presencia de replicación constante en los llamados reservorios del VIH, algunos estudios en pacientes que experimentan VBG han demostrado que las secuencias virales detectadas durante la misma son similares a las encontradas al comienzo de la infección(168,183,184). Estas observaciones respaldan la hipótesis de que la activación de las células infectadas en estado de latencia es la fuente de VBG(183–186). Una variación de esta hipótesis propone que existe una expresión continua de bajo grado en los reservorios estables del virus, por lo que la VBG tiene lugar cuando aparecen ciertos procesos biológicos aleatorios o debido a la variabilidad intrínseca de las distintas técnicas de detección de la CVP(168,187,188). Ello se ve reforzado por el hecho demostrado de que la replicación persistente puede mantenerse en los reservorios a pesar de un TAR efectivo(189). No obstante, algunos trabajos apuntan a que, durante el empleo de ciertos esquemas de TAR, estos viriones no perpetuarían la infección, ya que los IP interfieren en la maduración de los

nuevos virus, volviéndolos defectuosos y no infecciosos, y los inhibidores de la transcriptasa inversa bloquean la infección de células adicionales.

Para comprender mejor el postulado del presente epígrafe, vamos a detallar los hallazgos de otro trabajo norteamericano(190). En él, se compararon secuencias virales procedentes de muestras de plasma de pacientes con VBG con secuencias de células mononucleares de sangre periférica recogidas antes y durante el cumplimiento de TAR. Los sujetos del estudio fueron niños y adolescentes con una CVP media inferior a 50 copias/ml después de 1 año de TAR. Los criterios de inclusión fueron uno o más episodios de VBG intermitente, definidos como mediciones de CVP 50-400 copias/ml tras, al menos, una determinación de CVP inferior a 50 copias/ml, con dos o más valores posteriores que regresan a <50 copias/ml. El FV se definió como dos valores consecutivos de CVP superior a 400 copias/ml o un único valor superior a 1.500 copias/ml.

Se documentó VBG en 21 de 37 (57%) pacientes y se pudo obtener muestras plasmáticas en 14 de éstos. Los 14 sujetos tuvieron un total de 44 episodios de VBG durante los 4,5 años de media que cumplieron TAR. La CVP se cuantificó una media de 4,6 veces al año y los niveles de CVP durante los episodios de VBG oscilaron entre 50 y 374 (media de 72) copias/ml. En el análisis filogenético, las secuencias virales de los pacientes con VBG coincidieron con aquellas secuenciadas al inicio en 8 de 11 sujetos. Además, 6 especímenes tenían múltiples secuencias virales idénticas, sugiriendo que su origen se encontraba en células infectadas al inicio y expandidas de forma clonal. Por otro lado, las partículas del virus en pacientes con VBG evolucionaron con el tiempo, lo que indica replicación viral, en 3 de 11 sujetos. Dos de estos presentaron VBG frecuente. En resumen, la VBG pareció proceder de dos procesos distintos, en primer lugar, del crecimiento clonal de células infectadas por VIH, presumiblemente después de la activación y proliferación de estas células, y, en segundo, de la replicación viral sostenida que tiene lugar, de manera presunta, en los reservorios del virus.

Los hallazgos anteriores se ven reforzados por las conclusiones de otro estudio que evaluó la discordancia existente entre los niveles de ARN viral en plasma y líquido cefalorraquídeo (LCR) en pacientes con VBG. Su interés reside, en buena medida, en el hecho de que el sistema nervioso central es considerado como uno de los santuarios del VIH, lo que le permitiría escapar del efecto del TAR. De manera prospectiva y multicéntrica se reclutaron

pacientes con VBG, definida ésta como al menos un episodio de viremia sin explicación por encima del umbral de detección (40 copias/ml) dentro de los 12 meses previos. No se especificó un límite máximo de CVP y se incluyeron pacientes con «blips» y VBG persistente. Se excluyeron aquellos con una explicación alternativa para el repunte virológico, como, por ejemplo, una adherencia menor del 95% o el inicio reciente de TAR. Además, se estableció un grupo control de pacientes con supresión viral sostenida. Finalmente, 153 pacientes fueron enrolados, 40 con VBG. Siete de los 40 (18%) pacientes con VBG tenían discordancia LCR/plasma, frente a ninguno del grupo control ( $p=0,005$ ). La discordancia se asoció con el *nadir* de linfocitos T CD4+ y las mutaciones detectadas en las muestras de LCR, pero no con las concentraciones de antirretrovirales en plasma o LCR(191).

## **F.2 ADHERENCIA AL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL**

El buen cumplimiento del TAR es una condición fundamental para el control de la infección por el VIH. Por consiguiente, la adherencia subóptima al TAR se ha relacionado con una mayor frecuencia de viremias residuales o de bajo grado; a pesar de que ésta puede ocurrir en casos de adherencia completa al TAR.

A este respecto, resulta de interés revisar las conclusiones de varias publicaciones, algunas de las cuales ya hemos mencionado. En primer lugar, destacamos en ya citado trabajo realizado a partir la cohorte prospectiva *REACH Adherence Monitoring Cohort* con pacientes con CVP indetectable durante más de 3 meses(113). Se define VBG como viremias de 50-1.000 copias/ml y FV como cargas virales superiores a 1.000 copias/ml. Los esquemas de TAR empleados se basan en IP, IP/r o ITINN combinados con ITIAN. El 28,9% de los 128 participantes presentaron VBG, no observándose diferencias significativas en las características basales de los mismo en función de la presencia o no de VBG, con la excepción del esquema de TAR (mayor porcentaje de uso de IP e IP/r en los pacientes con VBG).

En el análisis multivariante, las pautas basadas en IP e IP/r se asociaron al desarrollo de VBG (HR 3,1 en ambos casos;  $p=0,02$  y  $p=0,01$ , respectivamente). No se observaron diferencias en cuanto al riesgo de VBG entre IP e IP/r (HR 1;  $p=0,94$ ). La adherencia al TAR quedó en el límite de la significación estadística (HR 1.1 por cada descenso del 5% en el grado de adherencia;  $p=0,050$ ). Junto a ello, no se detectó interacción entre la pauta de TAR y la

adherencia, y no se observaron diferencias significativas respecto a los niveles de adherencia entre los participantes tratados con regímenes basados en IP e ITINN(113).

Los hallazgos previos se alinean con los datos obtenidos de una cohorte austríaca de pacientes con CVP suprimida tras 6 meses de TAR no modificado, que se basó en la combinación de ITIAN más IP o ITINN. La VBG se definió como una CVP entre el umbral de detección de la técnica y 200 copias/ml, cifra a partir de la cual se consideró como FV. De 2.276 participantes, 1972 (86,6%) mantuvieron CVP indetectable, 222 (9,8%) desarrollaron VBG y 82 (3,6%) experimentaron FV. Se observó un mayor riesgo de VBG en pacientes con interrupciones del TAR (OR 1,69 IC95%: 1,22-2,34) y en pacientes que empleaban IP/r en sus esquemas de tratamiento (OR 1,54; IC95%: 1,15-2,06)(192).

Por último, otra investigación de la *REACH Adherence Monitoring Cohort* refuerza las líneas planteadas por los autores anteriores, al encontrar que el promedio de adherencia durante el seguimiento se asoció de manera inversa con los niveles de viremia residual (Spearman  $r=-0,25$ ;  $p=0,04$ ). En el análisis de regresión multivariante, la adhesión al TAR, pero no los distintos esquemas de TAR, se asoció, de manera estadísticamente significativa, con los niveles de viremia residual. No obstante, hemos de apuntar que un tercio de los participantes 100% adherentes presentó viremia residual detectable(193).

### **F.3 CARACTERÍSTICAS DE LAS TÉCNICAS DE MEDICIÓN DE LA CARGA VIRAL Y LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS**

Diversos trabajos han sugerido que el tipo de técnica empleado para la cuantificación de la CVP podría condicionar la aparición de VBG. Los métodos de cuantificación modernos, altamente sensibles, han mostrado discrepancias entre ellos, resultando tal disparidad especialmente evidente en la medición de los niveles bajos de viremia.

En este sentido, disponemos de trabajos diseñados específicamente con pacientes que presentan VBG, como una investigación prospectiva belga que comparó tres ensayos comerciales: *Versant HIV-1 RNA 1.0 kPCR (Siemens)*, *Abbott Realtime HIV-1 (Abbott)* y *Cobas Ampliprep/Cobas Taqman HIV-1 v2.0 (Roche)*. Se evaluaron sus resultados para los siguientes rangos de detección: 100, 50, 25 y 12 copias/ml. Todos los ensayos mostraron una variabilidad sustancial en los niveles bajos de viremia, con un coeficiente de variación a 100, 50, 25 y 12 copias/ml, que osciló respectivamente entre el 32-44%, 35-68%, 41-83% y 33-77%. Cuando se compararon las distintas técnicas entre sí, la variabilidad fue similar; por

tanto, los autores concluyen que, a pesar de que los distintos métodos son comparables entre sí, asocian una variabilidad intrínseca que obliga a interpretar con cautela sus resultados para rangos de VBG(54).

Por otro lado, otro estudio europeo comparó los métodos *Abbott Realtime HIV-1* (*Abbott*) y *Cobas Ampliprep/Cobas Taqman HIV-1 v2.0* (*Roche*), tanto en pacientes VIH del grupo M como del grupo no M. Sus resultados arrojan una buena correlación ( $r=0,96$ ) entre las dos técnicas para las 260 muestras de plasma del grupo M analizadas. No obstante, el ensayo *Cobas Ampliprep* mostró valores significativamente más altos que el *Realtime*; además, en 51 muestras (20%) existieron diferencias superiores a  $0,5 \log_{10}$  copias/ml respecto a las determinaciones realizadas con *Realtime*. Por el contrario, sólo en 2 muestras realizadas se detectaron diferencias de más de  $0,5 \log_{10}$  copias/ml con *Realtime* respecto a *Cobas Ampliprep*. Además, de entre las 84 muestras con carga viral indetectable en el ensayo *Realtime* (umbral de detección de 40 copias/ml), 17 (20%) fueron detectables con el ensayo *Cobas Ampliprep* (umbral de 20 copias/ml), con valores que fueron desde 41 hasta 897 copias/ml. Las mediciones en los grupos no M fueron similares con ambas técnicas. Por tanto, los resultados de los dos ensayos se correlacionan bien, pero *Cobas Ampliprep* posee una mayor sensibilidad que puede influir a la hora de detectar VBG(65).

Hallazgos muy similares, en cuanto a variabilidad, se encontraron en publicaciones que compararon las versiones 1 y 2 del *Cobas Ampliprep/Cobas Taqman HIV-1*(194), o los modelos *Taqman* y *Amplificor* del método *Cobas Ampliprep*(170). Por su parte, resultados de la cohorte austríaca para el estudio del VIH (AHIVCOS), a pesar de que su estudio tenía un enfoque mucho más amplio, observaron que el riesgo de desarrollar VBG fue menor en pacientes de centros que emplearon *Abbott Realtime HIV-1* en comparación con aquellos que disponían del *Cobas Ampliprep/Cobas Taqman HIV-1 v2.0* (OR 0,33; IC95%: 0,21-0,51)(192).

Por otro lado, algunos investigadores han apreciado que cambios en el procesamiento de muestras, conducen a la detección del ARN viral en pacientes que previamente tenían niveles de CVP suprimidos. Además, cuando estudiaron el posible efecto de estos cambios, sobre repuntes virológicos posteriores, junto al que podría ejercer la sustitución de una técnica de medición por otra, encontraron que este fenómeno era atribuible únicamente a la modificación en el procesamiento del plasma, pero no al cambio de técnica(195).

Para otros, el incremento en la detección de episodios de VBG parece coincidir con el aumento del uso de tubos de preparación de plasma (PPT) para la recolección de muestras, en sustitución de los tubos de EDTA, y han tratado de explicar por qué los PPT pueden estar en el origen del fenómeno. De este modo, un grupo noruego observó, en un análisis retrospectivo de 4.049 muestras procedentes de pacientes con viremia inferior a 1.000 copias/ml, que los niveles de CVP en tubos PPT centrifugados antes del transporte al laboratorio, en comparación con los niveles de CVP en tubos PPT centrifugados tras el transporte y los niveles de CVP en tubos con EDTA, eran mayores. Además, apreciaron la presencia de numerosa celularidad asociada a ARN vírico en los tubos PPT centrifugados antes del traslado y relacionaron su recuento en dichos tubos con los niveles de CVP. El hecho de que el centrifugado pudiese eliminar dichas células, explicaría que en aquellas muestras obtenidas tras centrifugación posterior a su traslado al laboratorio, los niveles de viremia fuesen menores(196).

La cohorte prospectiva *Northwestern HIV Outpatient Study (HOPS)* también encontró que la frecuencia de «blips», definidos como repuntes aislados de CVP entre 50-2000 copias/ml, fue mayor en pacientes cuyas muestras se procesaron en PPT, que en aquellos con quienes se empleó el EDTA [39 pacientes (69,6%) frente a 3 (5,4%);  $p < 0,0001$ ](197).

#### **F.4 PROCESOS INTERCURRENTES Y OTROS CONDICIONANTES**

Ciertas condiciones de variada naturaleza como la malabsorción, las infecciones, la dosificación insuficiente del TAR, las interacciones medicamentosas, el metabolismo intracelular alterado, la hiperactividad del citocromo P450 o la sobreexpresión de la glucoproteína P pueden ejercer un importante efecto sobre la eficacia del TAR, por lo que la concurrencia de uno o varios de estos fenómenos también podría condicionar la aparición de VBG(197)(198).

Mencionaremos en último lugar una reciente contribución estadounidense realizada en la edición de 2019 de la *Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI)*, que abre la puerta a considerar una nueva posibilidad etiopatogénica para el fenómeno de VBG. Este grupo estudió a un total de 10 individuos que presentaban viremia detectable (mediana de 97,5 copias/ml, rango de 40 a 356 copias/ml) a pesar de recibir un TAR potente durante más de 6 meses (mediana de 10 años), asesoramiento sobre adherencia y, en algunos casos, cambios de régimen o intensificación. Un paciente fue excluido por evidencia filogenética de

la evolución del virus y acumulación de mutaciones de resistencia. En los 9 restantes se recogieron, al menos, dos muestras separadas en tiempo de células mononucleares procedentes de sangre periférica y se secuenció el genoma viral a partir de ARN plasmático, de ADN procedente de las células mononucleares, así como de sobrenadantes procedentes de ensayos cuantitativos de crecimiento viral.

En 6 de los 9 sujetos, las secuencias provirales de plasma coincidieron con las detectadas en las células mononucleares. Igualmente, el ARN viral en plasma y las secuencias provirales fueron idénticas al ARN de los sobrenadantes de los ensayos cuantitativos en 4 pacientes. Por tanto, los clones de monocitos que contienen provirus intactos pueden producir niveles clínicamente relevantes de viremia sin que exista una replicación viral persistente(199).

## **II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**



## **A. OBJETIVOS PRINCIPALES**

Los objetivos principales del presente estudio son:

- Investigar la prevalencia de viremia de bajo grado en los pacientes infectados por VIH, sometidos a tratamiento antirretroviral, procedentes de la cohorte prospectiva de la Red Española de Investigación de SIDA.
- Investigar, en el mismo grupo de pacientes, el impacto a largo plazo de diferentes niveles de VBG (50-199 y 200-499 copias/ml) en el desarrollo de:
  - o Evento combinado SIDA/muerte.
  - o Fracaso virológico.
  - o Eventos no relacionados con el SIDA graves.

## **B. OBJETIVOS SECUNDARIOS**

Evaluar los factores asociados a la presencia de VBG, diferenciados según los distintos estratos o grupos establecidos.

## **C. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

En expectativa de los resultados, partimos de las siguientes hipótesis:

- En la Cohorte de la Red Española de Investigación de SIDA, la prevalencia de VBG es similar a la detectada en trabajos realizados en entornos equiparables al nuestro.
- La VBG es un factor pronóstico que influye en el curso clínico de la infección por el VIH, en cuanto a la incidencia de eventos SIDA, mortalidad y eventos no relacionados con el SIDA.
- La VBG es un factor pronóstico que condiciona la respuesta al tratamiento e influye en las tasas de fracaso virológico.
- Existen factores que aumentan el riesgo de desarrollar VBG.



# **III. PACIENTES Y MÉTODO**



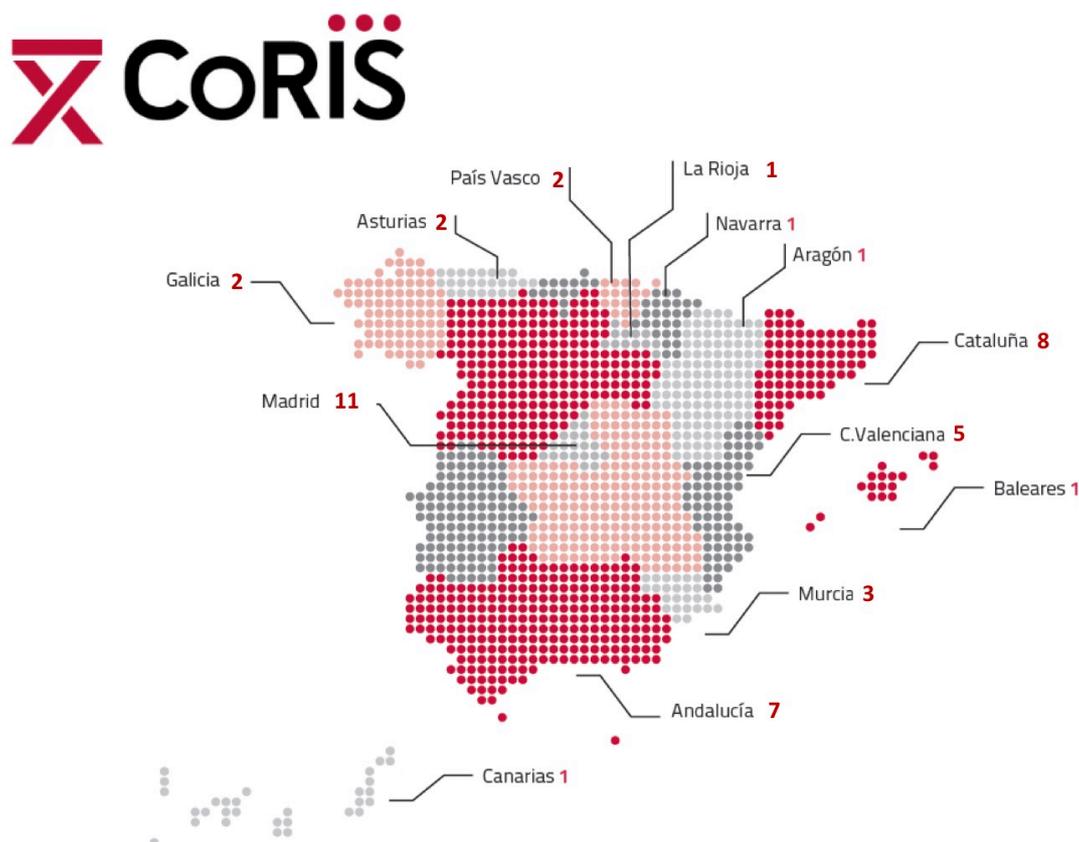
## A. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio de cohortes, abierto, prospectivo y multicéntrico con análisis retrospectivo.

## B. POBLACIÓN A ESTUDIO Y PERÍODO ANALIZADO

La cohorte de la Red Española de Investigación del SIDA (CoRIS) es una cohorte abierta, multicéntrica y prospectiva de adultos infectados por el VIH, sin tratamiento antirretroviral al ingreso, cuyo primer registro data de enero de 2004 y que, en el momento de realización del presente estudio, implica a 42 centros de 13 de las 17 comunidades autónomas españolas.

*Figura III.B. Centros participantes en la CoRIS a de 30 de noviembre de 2017.*



La Red Española de Investigación en SIDA (RIS) es una estructura integrada en el Instituto de Salud Carlos III, organismo dependiente del actual Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, cuyo objetivo es la investigación en materia de VIH/SIDA. Partiendo de tal premisa se creó la CoRIS, lo que ha permitido describir el panorama de la infección por el

VIH en España y servir de plataforma para contestar nuevas preguntas de investigación epidemiológica, clínica y básica(200).

En ella, se recopila un conjunto de datos basales, en el momento de la entrada en la cohorte, y durante el seguimiento, entre los que se incluyen las características sociodemográficas, inmuno-virológicas y clínicas, y la medicación antirretroviral que reciben, con fechas de inicio y finalización, así como los motivos de la interrupción del tratamiento. Además, desde febrero de 2008, se invita a todos los centros a proporcionar datos sobre la aparición de eventos no relacionados con el SIDA (ENOS), incluidos tumores malignos no defintorios de SIDA, eventos cardiovasculares, renales, hepáticos, psiquiátricos, óseos y metabólicos(200).

También asocia un repositorio de muestras biológicas (Biobanco), ubicado en el Hospital Gregorio Marañón (Madrid), que ha recibido el certificado de calidad UNE-EN-ISO 9001 y donde se almacenan muestras de sangre de todos los pacientes que firman el formulario específico de consentimiento informado. Se recoge una muestra basal antes del inicio del TAR y nuevas muestras cada 1 o 2 años a partir de ese punto. Antes de proceder a su criopreservación, la sangre es procesada para separar sus distintos componentes (suero, plasma, células, ADN, ARN...)(200,201). Los pacientes son seguidos periódicamente de acuerdo con la práctica clínica habitual(202).

El período analizado comienza el 1 de enero de 2004 y, para este proyecto, la fecha de censura administrativa para el conjunto de la muestra se establece en el 30 de noviembre de 2015.

### **C. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL**

Como se señala en la revisión bibliográfica realizada, entre el 4 y el 10% de los pacientes infectados por el VIH experimenta episodios persistentes de detección de VBG, cifra que se eleva hasta un 20% cuando hablamos de repuntes transitorios de viremia o «blips». Tras un análisis preliminar de la cohorte CoRIS, calculamos que, al menos, un 45% de los sujetos registrados cumplirían los criterios de inclusión del presente estudio. Esto suponía que, de los 12.239 pacientes incluidos en la cohorte hasta el 30 de noviembre de 2015, dispondríamos de unos 5.500 pacientes que podrían ser analizados y, aproximadamente, 1.100 pacientes

habrían presentado episodios de VBG, teniendo en cuenta los porcentajes más elevados registrados en la literatura.

Calculamos que una muestra de 680 individuos sería suficiente para estimar, con una confianza del 95% y una precisión de  $\pm 3$  unidades porcentuales, una frecuencia de alrededor del 20%. El porcentaje de pérdidas previsto se estimó en torno al 5%.

## **D. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN**

Los criterios de inclusión del presente estudio son:

- Pacientes mayores de 18 años.
- Pacientes que iniciaron el TAR y lo mantuvieron un mínimo de 6 meses.
- Pacientes que lograron la supresión viral, definida como una CVP por debajo de 50 copias/ml, dentro de los 3-9 meses posteriores al inicio del TAR.

Por otro lado, se consideraron como criterios de exclusión:

- La pérdida de seguimiento o ausencia de datos después de alcanzada la supresión viral.
- Para los análisis sobre la asociación entre la VBG y aparición de cualquier ENOS grave, también se excluyeron a aquellas personas monitorizadas en centros que no proporcionan datos al respecto.

## **E. VARIABLES**

### **E.1 VARIABLES PRINCIPALES**

Las variables principales son:

- Prevalencia de VBG.
- Primer evento combinado SIDA/muerte (ver Anexo I).
- Primer fracaso virológico, definido como tener, al menos, dos cargas virales consecutivas superiores o iguales a 500 copias/ml. La fecha de FV fue la correspondiente a la primera de estas determinaciones.
- Primer ENOS grave, agrupando bajo este concepto a las neoplasias no definitorias de SIDA y los eventos cardiovasculares, renales o hepáticos (ver Anexo I).

Todas ellas, se han considerado después de alcanzada la supresión virológica inicial.

La VBG se ha estratificado, siguiendo los criterios empleados por la *Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration* (ART-CC)(106), en tres grupos:

- Sin VBG: todas las determinaciones de CVP son inferiores a 50 copias/ml.
- VBG50-199: dos o más CVP consecutivas entre 50 y 199 copias/ml, determinadas con un mínimo de 1 mes de separación.
- VBG200-499: dos o más CVP consecutivas entre 50 y 499 copias/ml registradas con un mínimo de 1 mes de separación y con, al menos, una carga viral entre 200 y 499 copias/ml.

Las determinaciones puntuales de VBG o «blips» no se han incluido en el estudio.

## **E.2 CARACTERÍSTICAS BASALES**

Para la caracterización de la muestra se han analizado los siguientes parámetros registrados en el momento de inicio del tratamiento antirretroviral:

- Edad: continua y categorizada, <50 años, ≥ 50 años.
- Sexo: hombre o mujer.
- Grupo de transmisión: homosexual, bisexual, usuarios de drogas inyectables (UDI), otros.
- Origen: España, otros países.
- Nivel educativo: sin estudios o educación básica obligatoria, educación secundaria superior o universitaria.
- Diagnóstico de SIDA: sí, no.
- Recuento de linfocitos T CD4+: media, <200 células/mm<sup>3</sup>, 200-499 células/mm<sup>3</sup>, ≥ 500 células/mm<sup>3</sup>.
- Carga viral del VIH: continua y categorizada, <100.000 copias/ml, ≥ 100.000 copias/ml, desconocido.
- Año de inicio de TAR: 2004-2007, 2008-2011, 2012-2015.
- Régimen de TAR: 2 ITIAN + 1 ITINN, 2 ITIAN + 1 IP/r, 2 ITIAN + 1 INSTI, otro.
- Detección del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B: sí, no.
- Detección de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C: sí, no.
- Viremia de bajo grado: sin VBG, VBG50-199 copias/ml y VBG200-499 copias/ml.

## F. ANÁLISIS DE DATOS

Se ha realizado un análisis descriptivo de las características de los pacientes al inicio del TAR utilizando tablas de frecuencia para las variables categóricas, y mediana y rango intercuartílico (RIC) para las variables continuas. Las diferencias en cuanto a las características sociodemográficas y clínicas, entre los pacientes que no experimentaron VBG y los que experimentaron VBG50-199 y VBG200-499, se han evaluado a través de la prueba de Chi-cuadrado para las variables categóricas, y la prueba de Kruskal-Wallis para las variables continuas.

La relación entre los factores sociodemográficos y clínicos con la VBG50-199 y la VBG200-499, en comparación con los pacientes sin VBG, se establecieron mediante un modelo de regresión logística múltiple.

Para los análisis de asociación entre la VBG con el primer evento combinado SIDA/muerte, primer FV y primer ENOS grave, después de alcanzada la supresión virológica, el seguimiento comienza en la fecha de la primera CVP registrada por debajo de 50 copias/ml, en los 3-9 meses posteriores al inicio del TAR, y finaliza en la fecha del evento de interés, fecha de fallecimiento, fecha del último contacto del estudio o fecha de censura administrativa (aquello que haya tenido lugar primero). Aparte de la fecha de censura administrativa para el conjunto de la muestra, de forma individual, los análisis han sido censurados a la derecha 5 años después de la supresión virológica, debido al bajo número de eventos observados a partir de entonces.

Además, la VBG se analiza como una covariable dependiente del tiempo en la que los pacientes se incluyen en el grupo sin VBG desde la fecha de supresión viral hasta el primer episodio VBG50-199 / VBG200-499; en el grupo VBG50-199 desde el primer día que experimentan un episodio de VBG50-199 (antes de la primera VBG200-499) hasta la fecha de la primera VBG200-499 o fin del seguimiento; y en el grupo VBG200-499 desde el primer día que experimentan un episodio de VBG200-499 hasta la fecha de censura. Una vez que los pacientes son englobados en una categoría superior de VBG, permanecen en esta categoría durante el tiempo restante de seguimiento.

Junto a ello, hemos calculado las curvas de incidencia acumulada por causa específica y empleamos un modelo de riesgo proporcional de Cox, estratificado por centro, para estimar las razones de riesgo ajustadas y crudas. La suposición de riesgos proporcionales ha sido verificada gráficamente y mediante pruebas basadas en los residuos de Schoenfeld.

Los modelos multivariantes están ajustados por sexo (masculino, femenino), edad (<50, ≥50 años), grupo de transmisión (homo/bisexual, uso de drogas por vía parenteral, heterosexual, otro/desconocido), nivel educativo (educación obligatoria o no, secundaria superior o universidad, desconocido), país de origen (España, otro, desconocido), recuento de células CD4+ (<200 células/mm<sup>3</sup>, ≥200 células/mm<sup>3</sup>, desconocido), carga viral del VIH-1 (<100.000 copias/ml, ≥100.000 copias/ml, desconocido) y diagnóstico de SIDA (no, sí), anticuerpos del virus de la hepatitis C (no, sí, desconocido), antígeno de superficie de la hepatitis B (no, sí, desconocido), régimen de TAR (2 ITIAN + 1 ITINN, 2 ITIAN + 1 IP/r, 2 ITIAN + 1 INSTI, otro/no especificado) y año de inicio del TAR (2004-2007, 2008-2011, 2012- 2015). Se han empleado pruebas de Wald para los valores de p. Todos los análisis estadísticos se han realizado con Stata Software (versión 14, College Station, Texas, EE. UU.).

## **G. FUENTE DE DATOS**

La base de datos con los parámetros analizados ha sido cedida por la Red de Investigación de SIDA, cuyo centro coordinador de datos está ubicado en el Centro Nacional de Epidemiología del Instituto de Salud Carlos III de Madrid(200).

## **H. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES**

Todos los participantes de CoRIS firman un consentimiento informado a la entrada en la cohorte, bajo la premisa de que los datos son anónimos y que las personas pueden revocar el consentimiento en cualquier momento, de conformidad con la Ley Española de Protección de Datos. En el caso de los pacientes que cumplen criterios de inclusión, pero que fallecen antes de poderles solicitar su consentimiento, se recoge un conjunto mínimo de datos. Existen dos consentimientos, uno para proporcionar datos a la cohorte, y otro para proporcionar datos a la cohorte y a su biobanco(200).

Para la realización del presente trabajo, se otorgó la aprobación por parte del Comité Científico de la CoRIS. Además, todos los comités éticos de investigación de cada centro asistencial han autorizado su participación en CoRIS(200).

La cohorte cuenta con el apoyo del Instituto de Salud Carlos III a través de la Red Temática de Investigación Cooperativa en SIDA (RD06/006, RD06/0027, RD12/0017/0018/0023, RD16/0002/0006 y RD16/0025/0038), como parte del Plan Nacional de Investigación, Desarrollo e Innovación. También está cofinanciada por la Subdirección General de Evaluación del mismo Instituto y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

Este estudio ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III a través del proyecto "PI17 / 01545" (cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional y el Fondo Social Europeo). Además, el presente trabajo se engloba dentro de la actividad del grupo de trabajo para la investigación en Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario Reina Sofía de Murcia, que cuenta con apoyo de *Gilead Sciences* a través de la concesión de *The Fellowship Program* y la Universidad Católica San Antonio de Murcia.



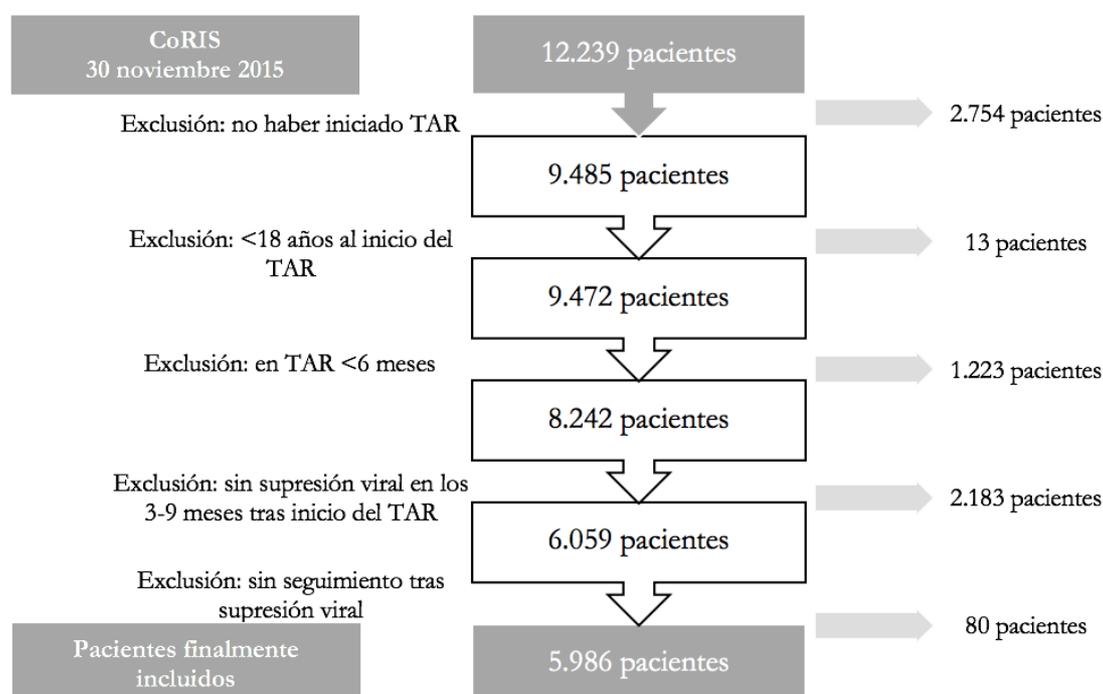
## **IV. RESULTADOS**



## A. SELECCIÓN DE PACIENTES

Entre el 1 de enero de 2004 y el 30 de noviembre de 2015, la CoRIS incluía un total de 12.239 pacientes, de los cuales 5.986 cumplieron todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión. Las principales causas de no inclusión fueron no haber iniciado el TAR (2.754 pacientes) y no alcanzar la supresión virológica en el período estipulado (2.183 pacientes). Sólo 80 pacientes fueron excluidos por no tener seguimiento tras alcanzar la supresión virológica. En la figura IV.A.1 se muestra el diagrama de selección con el conjunto de los pacientes.

Figura IV.A.1.- Diagrama de selección de pacientes.



## B. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA MUESTRA

En la tabla IV.B.1 se detallan los resultados de aquellas variables que caracterizan nuestra muestra. Entre ellas, destaca una mediana de edad de 36 años [Rango Intercuartílico (RIC) 30-44], el predominio masculino (82,9%), una mediana de linfocitos T CD4+ en el momento de inicio del TAR de 294 (RIC 176-411) células/mm<sup>3</sup> y que la mayoría (56,5%) comenzó tratamiento con regímenes basados en 2 ITIAN más 1 ITINN.

Tabla IV.B.1.- Características basales de los pacientes incluidos en el estudio.

	Total 5.986
Sexo [n (%)]	
Hombre	4.967 (82,9%)
Mujer	1.019 (17,1%)
Edad [n (%)]	
Mediana [años (RIC)]	36 (30-44)
<50	5.239 (87,5%)
≥50	747 (12,5%)
Grupo de transmisión [n (%)]	
Homo/bisexual	3.451 (57,6%)
UDI	438 (7,3%)
Heterosexual	1.896 (31,7%)
Otro/desconocido	201 (3,4%)
Nivel educativo [n (%)]	
Sin estudios o educación obligatoria	1.984 (33,1%)
Secundaria superior o universitaria	3.023 (50,5%)
Desconocido	979 (16,4%)
País de origen [n (%)]	
España	4.338 (72,5%)
Otro país	1.637 (27,3%)
Desconocido	11 (0,2%)
Recuento de CD4+ [n (%)]	
Mediana [células/mm <sup>3</sup> (RIC)]	294 (176-411)
<200	1.663 (27,8%)
200-499	3.293 (55%)
≥500	803 (13,4%)
Desconocido	227 (3,8%)
Carga viral plasmática [n (%)]	
<100.000	3.656 (61,1%)
≥100.000	2.086 (34,8%)
Desconocido	244 (4,1%)
Diagnóstico de SIDA [n (%)]	
No	5.209 (87%)
Sí	777 (13%)
Anticuerpos VHC [n (%)]	
No	2.798 (46,7%)
Sí	625 (10,5%)
Desconocido	2.563 (42,8%)
HBsAg [n (%)]	
No	2.746 (45,9%)
Sí	143 (2,4%)
Desconocido	3.097 (51,7%)
Régimen TAR [n (%)]	
2 ITIAN + 1 ITINN	3.380 (56,5%)
2 ITIAN + 1 IP/r	1.724 (28,8%)
2 ITIAN + 1 INSTI	564 (9,4%)
Otros	230 (3,8%)
No especificado	88 (1,5%)
Año de inicio del TAR [n (%)]	
2004-2007	1.253 (20,9%)
2008-2011	2.535 (42,4%)
2012-2015	2.198 (36,7%)
UDI: Usuarios de drogas inyectables. VHC: virus de la hepatitis C. HBsAg: antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. TAR: tratamiento antirretroviral. ITIAN: inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótido. ITINN: inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleótido. IP/r: inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir. INSTI: inhibidor de la integrasa.	

Las variables categóricas se expresan como frecuencia absoluta (n) y porcentaje (%). Las variables cuantitativas se muestran como mediana y rango intercuartílico (RIC).

## C. ANÁLISIS DE LA PREVALENCIA DE LA VIREMIA DE BAJO GRADO Y FACTORES ASOCIADOS

Del total de pacientes estudiados, 403 (6,8%) experimentaron un episodio de VBG y, de éstos, 237 (4%) pacientes desarrollaron, al menos, un episodio de VBG50-199 sin llegar a alcanzar el rango de VBG200-499. La mediana de duración de VBG50-199 fue de 38,4 meses (RIC, 21,2 – 55,9). Junto a ello, 168 (2,8%) pacientes registraron, como mínimo, un episodio de VBG200-499, con una mediana de duración del mismo de 38,7 (RIC, 21,2 – 55,9) meses.

La mediana del tiempo de seguimiento después de la supresión viral fue de 3,5 (RIC, 1,5 – 5,5) años en pacientes que no experimentaron VBG; 4,9 (RIC, 3,5 – 7,2) años en aquellos que experimentaron, al menos, un episodio de VBG50-199 sin VBG200-499 y 6,3 (RIC, 4,8 – 8,3) en aquellos que experimentaron, como mínimo, un episodio de VBG200-499. La mediana del número de determinaciones de CVP por individuo después de la supresión viral fue de 9 (RIC, 4 – 14) en el grupo sin VBG; 15 (RIC, 10 – 21) en el grupo VBG50-199 y 18 (RIC, 13 – 24) en el grupo VBG200-499.

La mediana de tiempo transcurrido entre determinaciones consecutivas de CVP fue de 4,8 (RIC, 4,0 – 5,8), 4,2 (RIC, 3,7 – 5,0) y 4,2 (RIC, 3,5 – 5,1) meses, respectivamente. Por otro lado, la mediana del tiempo entre la consecución de la supresión viral y la aparición de VBG fue de 1,3 años (RIC, 0,50 – 3,03) en el grupo de VBG50-199; y de 2,3 años (RIC, 1,1 – 4,2) en el de VBG200-499.

En la tabla IV.C.1 se muestran las características sociodemográficas y clínicas al inicio del TAR según la presencia y el grado de VBG, incluyendo el análisis univariante de los factores asociados a la presencia de VBG. Así, podemos apreciar que la VBG se asocia, de manera estadísticamente significativa, al sexo masculino, la edad  $\geq 50$  años, el grupo de transmisión heterosexual, un recuento de linfocitos CD4+  $< 200$  células/mm<sup>3</sup>, una determinación de CVP  $\geq 100.000$  copias/ml antes del inicio del TAR, criterios de SIDA presentes al inicio del TAR, presencia de anticuerpos de la hepatitis C, regímenes basados en IP/r y el inicio del TAR antes de 2008.

Tabla IV.C.1.- Características basales estratificadas según el grupo de VBG y análisis univariante de los factores asociados con VBG50-199 y VBG200-499 en comparación con la ausencia de VBG.

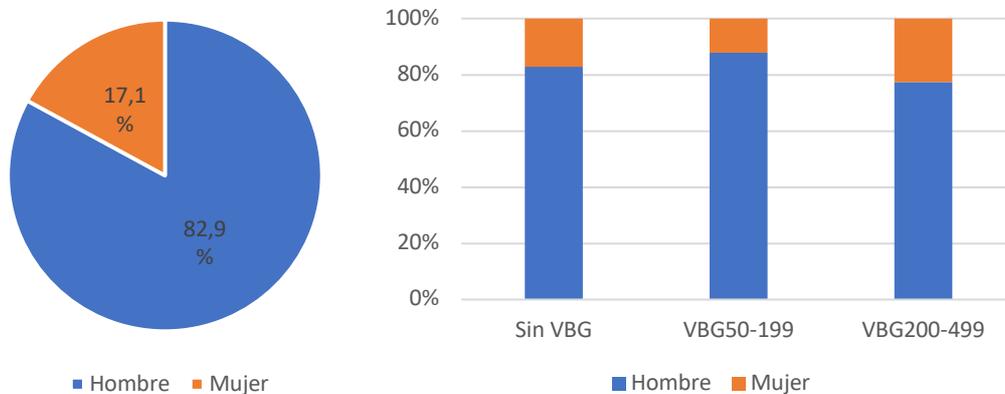
	No VBG (5.581; 93,2%)	VBG50-199 (237; 4,0%)	VBG200-499 (168; 2,8%)	P
Sexo [n (%)]				
Hombre	4629 (82,9)	208 (87,8)	130 (77,4)	0,02
Mujer	952 (17,1)	29 (12,2)	38 (22,6)	
Edad				
Mediana [años (RIC)]	36 (30-44)	37 (32-44)	39 (32-46)	0,03 0,06
<50	4898 (87,8)	203 (85,6)	138 (82,1)	
≥50	683 (12,2)	34 (14,4)	30 (17,9)	
Grupo de transmisión [n (%)]				<0,001
Homo/bisexual	3250 (58,2)	130 (54,8)	71 (42,3)	
UDI	393 (7,0)	26 (11,0)	19 (11,3)	
Heterosexual	1758 (31,5)	70 (29,5)	68 (40,5)	
Otro/desconocido	180 (3,2)	11 (4,6)	10 (5,9)	
Nivel educativo [n (%)]				0,08
Sin estudios o educación obligatoria	1824 (32,7)	91 (38,4)	69 (41,1)	
Secundaria superior o universitaria	2837 (50,8)	110 (46,4)	76 (45,2)	
Desconocido	920 (16,5)	36 (15,2)	23 (13,7)	
País de origen				0,63
España	4035 (72,3)	181 (76,4)	122 (72,6)	
Otro país	1535 (27,5)	56 (23,6)	46 (27,4)	
Desconocido	11 (0,2)	0	0	
Recuento de CD4+				<0,001 <0,001
Mediana [células/mm <sup>3</sup> (RIC)]	297 (183-416)	248 (98-361)	175 (80-306)	
<200	1484 (26,6)	92 (38,8)	87 (51,8)	
200-499	3111 (55,7)	122 (51,5)	60 (35,7)	
≥500	773 (13,8)	16 (6,7)	14 (8,3)	
Desconocido	213 (3,8)	7 (2,9)	7 (4,2)	
Carga viral plasmática [n (%)]				<0,001
<100.000	3491 (62,5)	94 (39,7)	71 (42,3)	
≥100.000	1857 (33,3)	137 (57,8)	92 (54,8)	
Desconocido	233 (4,2)	6 (2,5)	5 (3,0)	
Diagnóstico de SIDA [n (%)]				<0,001
No	4891 (87,6)	188 (79,3)	130 (77,4)	
Sí	690 (12,4)	49 (20,7)	38 (22,6)	
Anticuerpos VHC [n (%)]				0,001
No	2609 (46,7)	117 (49,4)	72 (42,9)	
Sí	562 (10,1)	31 (13,1)	32 (19,0)	
Desconocido	2410 (43,2)	89 (37,5)	64 (38,1)	
HBsAg [n (%)]				0,09
No	2535 (45,4)	123 (51,9)	88 (52,4)	
Sí	131 (2,4)	7 (2,9)	5 (3,0)	
Desconocido	2915 (52,2)	107 (45,1)	75 (44,6)	
Régimen TAR [n (%)]				<0,001
2 ITIAN + 1 ITINN	3200 (57,3)	117 (49,4)	63 (37,5)	
2 ITIAN + 1 IP/r	1542 (27,6)	100 (42,2)	82 (48,8)	
2 ITIAN + 1 INSTI	551 (9,9)	7 (2,9)	6 (3,6)	
Otros	206 (3,7)	10 (4,2)	14 (8,3)	
No especificado	82 (1,5)	3 (1,3)	3 (1,8)	
Año de inicio del TAR [n (%)]				<0,001
2004-2007	1087 (19,5)	86 (36,3)	80 (47,6)	
2008-2011	2344 (42,0)	116 (48,9)	75 (44,6)	
2012-2015	2150 (38,5)	35 (14,8)	13 (7,7)	

UDI: Usuarios de drogas inyectables. VHC: virus de la hepatitis C. HBsAg: antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. TAR: tratamiento antirretroviral. ITIAN: inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótido. ITINN: inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleótido. IP/r: inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir. INSTI: inhibidor de la integrasa.

Las variables categóricas se expresan como frecuencia absoluta (n) y porcentaje (%). Las variables cuantitativas se muestran como mediana y rango intercuartílico (RIC).

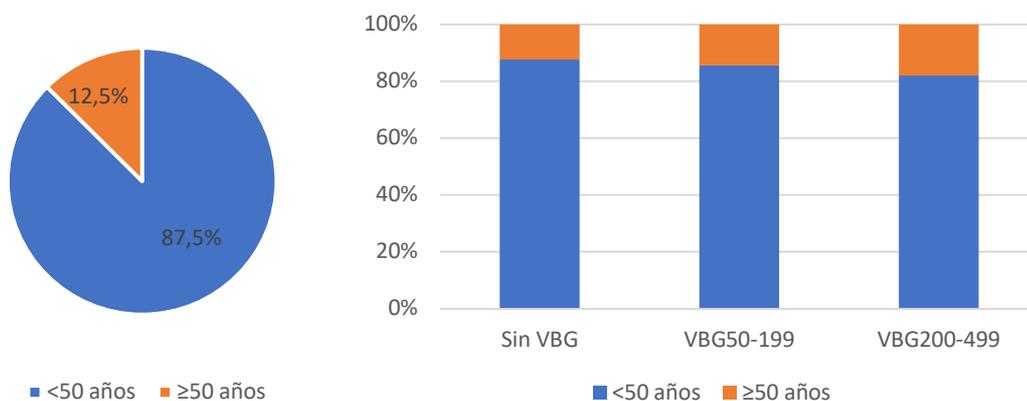
A continuación, se ofrecen diagramas de sectores y gráficos de barras relativos a las características basales de la muestra estratificada según el grupo de VBG.

Figura IV.C.1. Distribución por sexo.



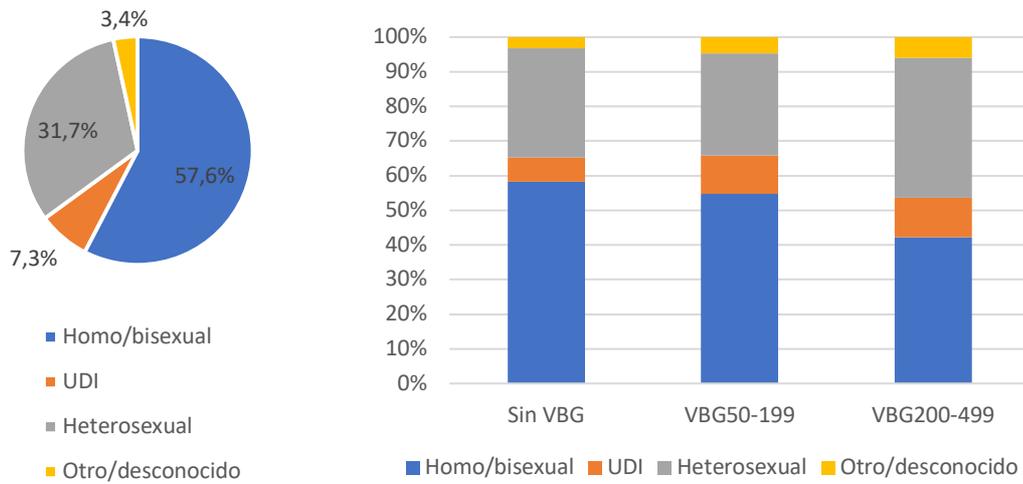
A la izquierda se representan los datos relativos al conjunto de la muestra y, a la derecha, según los distintos grupos de VBG.

Figura IV.C.2. Distribución por grupo de edad.



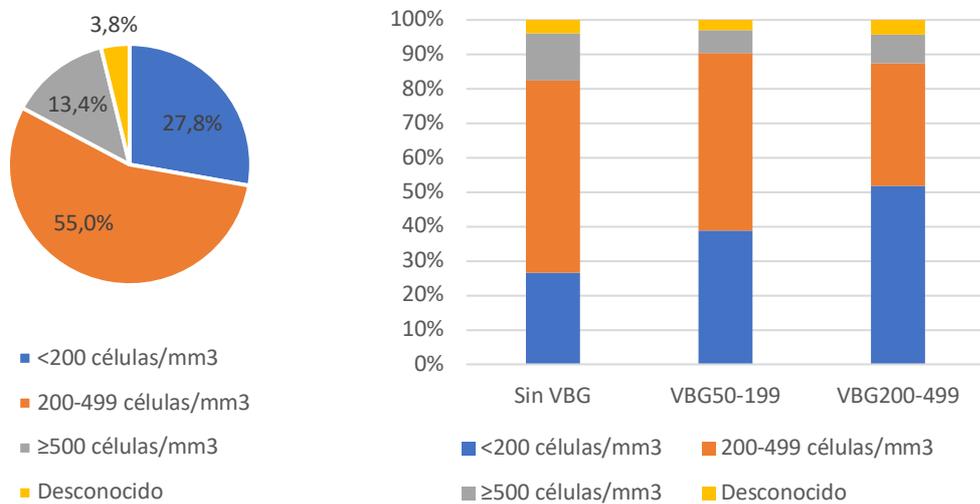
A la izquierda se representan los datos relativos al conjunto de la muestra y, a la derecha, según los distintos grupos de VBG.

Figura IV.C.3. Distribución según grupo de transmisión.



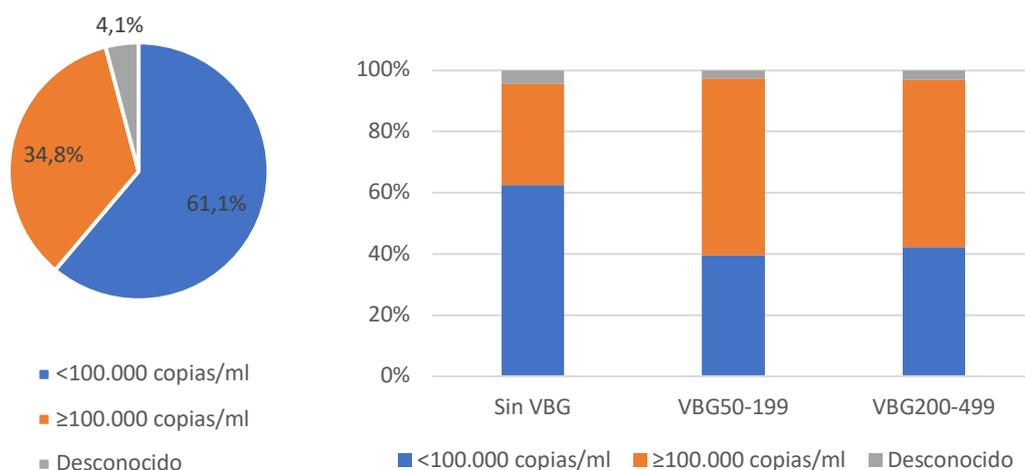
A la izquierda se representan los datos relativos al conjunto de la muestra y, a la derecha, según los distintos grupos de VBG.

Figura IV.C.4. Distribución según los niveles de recuento de linfocitos T CD4+.



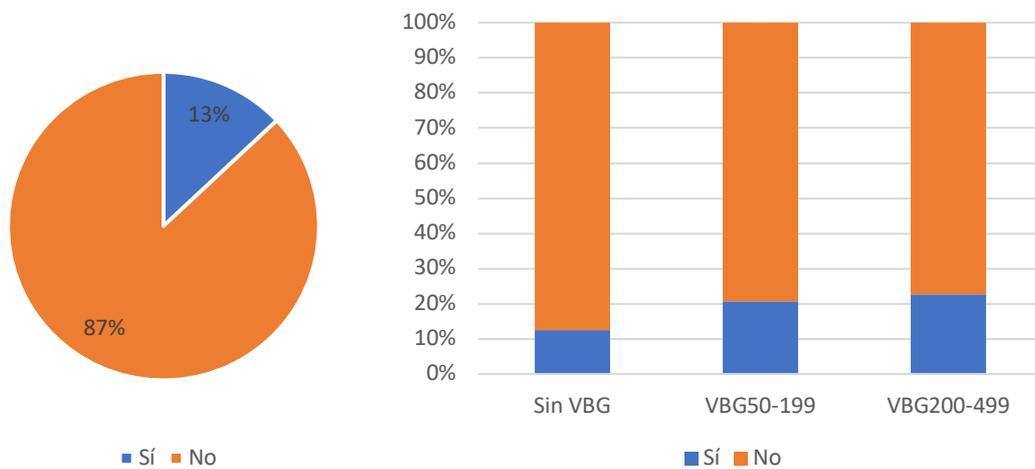
A la izquierda se representan los datos relativos al conjunto de la muestra y, a la derecha, según los distintos grupos de VBG.

Figura IV.C.5. Distribución según los niveles de CVP al inicio del TAR.



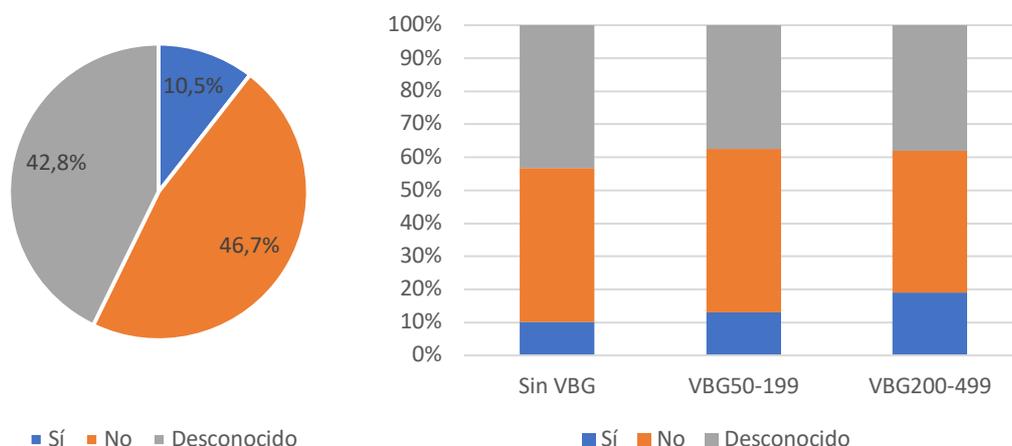
A la izquierda se representan los datos relativos al conjunto de la muestra y, a la derecha, según los distintos grupos de VBG.

Figura IV.C.6. Distribución según la presencia de criterios de SIDA en el momento de inicio del TAR.



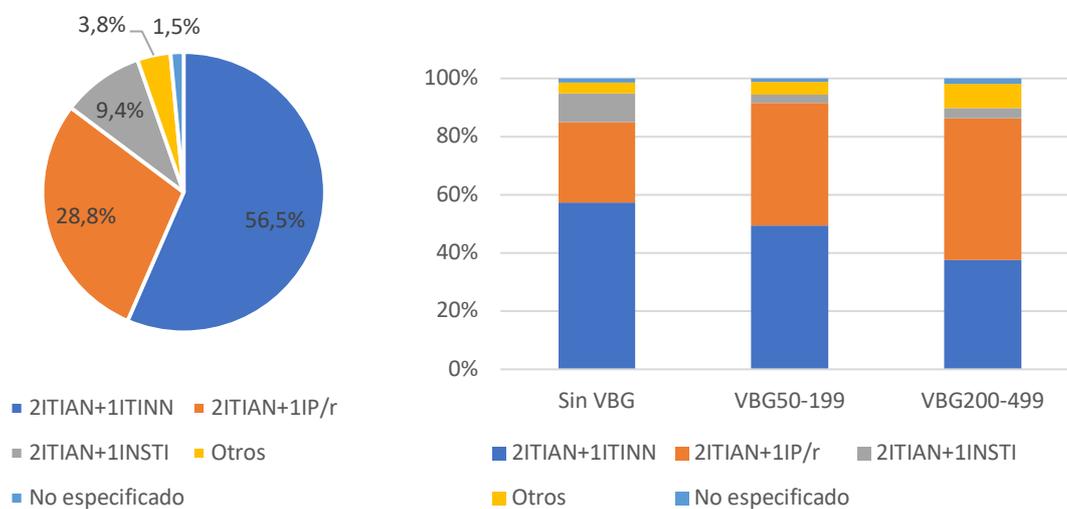
A la izquierda se representan los datos relativos al conjunto de la muestra y, a la derecha, según los distintos grupos de VBG.

Figura IV.C.7. Distribución según la detección de anticuerpos contra el VHC.



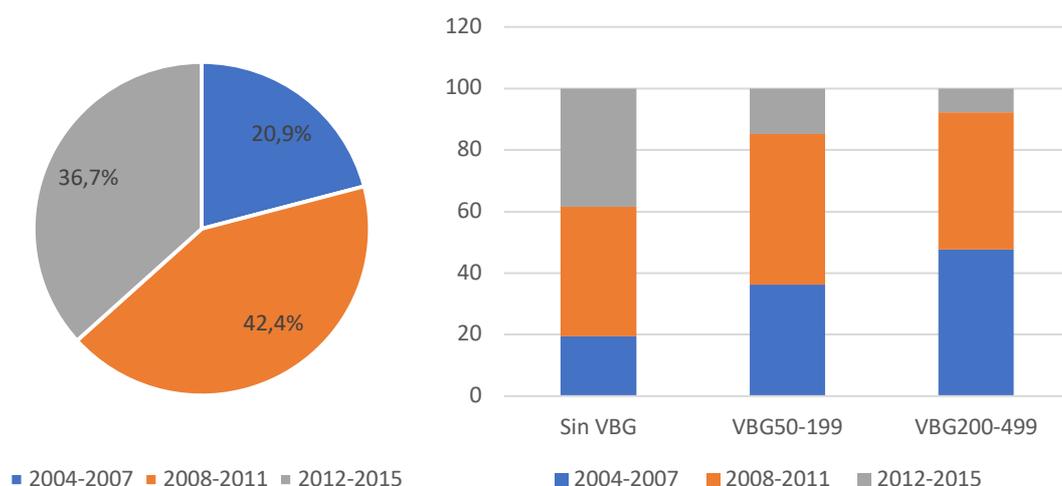
A la izquierda se representan los datos relativos al conjunto de la muestra y, a la derecha, según los distintos grupos de VBG.

Figura IV.C.8. Distribución según los distintos regímenes de TAR.



A la izquierda se representan los datos relativos al conjunto de la muestra y, a la derecha, según los distintos grupos de VBG.

Figura IV. C.9. Distribución según los períodos de inicio del TAR.



A la izquierda se representan los datos relativos al conjunto de la muestra y, a la derecha, según los distintos grupos de VBG.

En la tabla IV.C.2 se detalla el análisis multivariante de los factores asociados a la presencia de VBG estratificada según el nivel CVP. En este sentido, la VBG50-199, en comparación con la ausencia de VBG, se asoció al inicio de TAR basado en regímenes con IP/r, la determinación de CVP  $\geq 100.000$  copias/ml al comienzo del tratamiento y al período previo a 2008. En sentido opuesto, existe una relación inversa con el sexo femenino y los esquemas que incluyen 2 ITIAN y 1 INSTI.

Por su parte, la aparición de VBG200-499 se asoció con una CVP al inicio del TAR  $\geq 100.000$  copias/ml y pautas de tratamiento que contienen IP/r. En cambio, se relaciona con una menor frecuencia al recuento de linfocitos T CD4+  $\geq 200$  células/mm<sup>3</sup> y al inicio del TAR en el período 2008-2015.

Tabla IV.C.2.- Análisis multivariante de los factores sociodemográficos y clínicos asociados con VBG50-199 y VBG200-499 en comparación con la ausencia de VBG.

	VBG50-199		VBG200-499	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Sexo				
Hombre	1,00	<0,001	1,00	0,48
Mujer	0,60 (0,46-0,77)		1,10 (0,84-1,45)	
Recuento de CD4+				
<200	1,00	0,64	1,00	<0,001
≥200	0,93 (0,68-1,26)		0,54 (0,35-0,82)	
Desconocido	1,57 (0,45-5,42)		2,18 (0,89-5,32)	
Carga viral plasmática				
<100.000	1,00	<0,001	1,00	<0,001
≥100.000	2,43 (1,88-3,15)		1,96 (1,37-2,80)	
Desconocido	0,64 (0,25-1,62)		0,36 (0,13-0,98)	
Anticuerpos VHC				
No	1,00	0,80	1,00	0,053
Sí	1,11 (0,74-1,68)		1,61 (1,08-2,40)	
Desconocido	0,98 (0,62-1,56)		1,30 (0,80-2,11)	
Régimen de TAR				
2 ITIAN + 1 ITINN	1,00	<0,001	1,00	<0,001
2 ITIAN + 1 IP/r	1,65 (1,28-2,12)		2,22 (1,54-3,20)	
2 ITIAN + 1 INSTI	0,54 (0,29-1,01)		1,22 (0,45-3,28)	
Otros/No especificado	1,15 (0,58-2,28)		2,70 (1,35-5,42)	
Año de inicio del TAR				
2004-2007	1,00	<0,001	1,00	<0,001
2008-2011	0,72 (0,53-0,99)		0,56 (0,36-0,87)	
2012-2015	0,26 (0,13-0,49)		0,12 (0,04-0,35)	

VHC: virus de la hepatitis C. TAR: tratamiento antirretroviral. ITIAN: inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótido. ITINN: inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleótido. IP/r: inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir. INSTI: inhibidor de la integrasa.

Las variables categóricas se expresan por frecuencia absoluta (n) y porcentaje (%). Las variables cuantitativas se muestran como mediana y rango intercuartílico (RIC).

#### D. ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA VIREMIA DE BAJO GRADO SOBRE LA INCIDENCIA DE SIDA/MUERTE

Finalmente, 171 pacientes fallecieron o desarrollaron un evento SIDA, durante un total de 19.117 personas-años de seguimiento; de los cuales 154 ocurrieron en el grupo sin VBG, 8 en VBG50-199 y 9 en VBG200-499. Este dato corresponde con 0,9 (IC 95% 0,8 – 1,0) eventos SIDA/muerte por cada 100 personas-años de seguimiento [Sin VBG 0,8 (IC 95%, 0,7 – 1,0), VBG50-199 1,4 (IC 95%, 0,7 – 2,8) y VBG200-499 2,9 (IC 95%, 1,5 – 5,5)] (tabla IV.F.3).

Cinco años después de alcanzar la supresión virológica, el 4,2% de los pacientes desarrolló un evento SIDA o fallecieron, frente al 3,9% en los pacientes que mantuvieron la CVP

indetectable. De forma más detallada, en los pacientes con VBG50-199, la incidencia acumulada fue del 6% y del 19% en aquellos con VBG200-499 (figura IV.D.1 y tabla IV.D.1).

Figura IV.D.1.- Incidencia acumulada del primer evento combinado SIDA/muerte, tras alcanzar la supresión virológica, en relación con los distintos niveles de VBG.

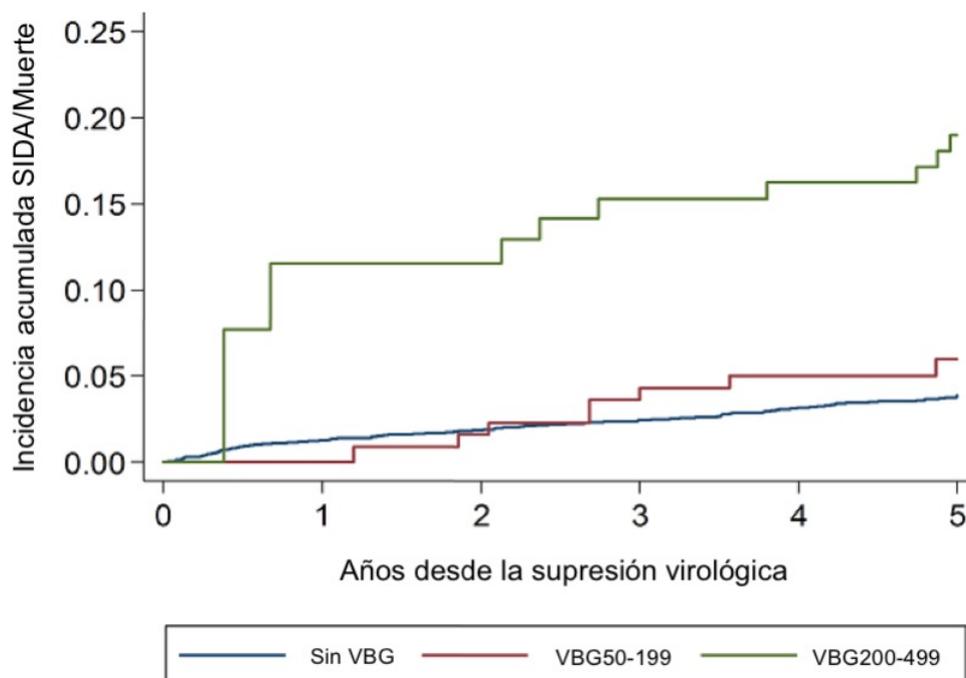


Tabla IV.D.1.- Incidencia acumulada de eventos SIDA/muerte.

	Año de seguimiento	Pacientes	SIDA/muerte	Incidencia acumulada	IC 95%
Sin VBG	0	0	0	0,0000	.
	1	4.877	72	0,0129	0,0102-0,0162
	2	3.951	26	0,0187	0,0153-0,0227
	3	3.169	21	0,0244	0,0204-0,0293
	4	2.435	20	0,0315	0,0266-0,0373
	5	1.702	15	0,0387	0,0327-0,0457
VBG50-199	0	0	0	0,0000	.
	1	108	0	0,0000	.
	2	141	2	0,0159	0,0040-0,0623
	3	142	3	0,0363	0,0152-0,0853
	4	125	2	0,0502	0,0242-0,1025
	5	96	1	0,0600	0,0302-0,1171
VBG200-499	0	0	0	0,0000	.
	1	36	2	0,1154	0,0284-0,4069
	2	62	0	0,1154	0,0284-0,4069
	3	80	3	0,1528	0,0531-0,3959
	4	87	1	0,1625	0,0603-0,3968
	5	88	3	0,1900	0,0822-0,4043

Nótese que la incidencia acumulada se calcula sobre datos completos y se evalúa en los momentos indicados; no se calcula a partir de los agregados que se muestran a la izquierda.

En el análisis multivariante ajustado a las características basales al comienzo del tratamiento, la VBG200-499 se asoció con un riesgo mayor de eventos SIDA/muerte [Hazard ratio ajustada (HRa), 2,89; IC 95%, 1,41 – 5,92]; mientras que no se encontraron diferencias entre la VBG50-199 (HRa, 1,44; IC 95% 0,69 – 3,03) y la CVP indetectable (tabla IV.F.3).

Junto a lo anterior, a la aparición de eventos SIDA/muerte, también se asociaron la edad igual o superior a 50 años, la viremia inicial mayor o igual a 100.000 copias/ml, el diagnóstico de SIDA y la presencia de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C. Por el contrario, un recuento de linfocitos T CD4+ de 200-499 y el inicio del TAR en 2008 o en años posteriores se relacionó con menor incidencia de eventos SIDA/muerte (tabla IV.D.2).

Tabla IV.D.2.- Análisis multivariante para estimar el efecto de la VBG sobre el evento combinado SIDA/muerte.

	HR (IC 95%)	p
Grupo VBG		
No VBG	1	
VBG50-199	1,442 (0,685-3,035)	0,335
VBG200-499	2,889 (1,411-5,915)	0,004
Sexo		
Hombre	1	
Mujer	0,762 (0,491-1,181)	0,224
Edad		
<50	1	
≥50	2,261 (1,571-3,254)	<0,001
Grupo de transmisión		
Homo/bisexual	1	
UDI	1,310 (0,700-2,452)	0,398
Heterosexual	1,305 (0,856-1,989)	0,216
Otro/desconocido	0,961 (0,426-2,169)	0,924
Nivel educativo		
Sin estudios o educación obligatoria	1	
Secundaria superior o universitaria	0,783 (0,538-1,139)	0,201
Desconocido	1,308 (0,781-2,191)	0,308
País de origen		
España	1	
Otro país	1,052 (0,712-1,555)	0,798
Desconocido	5,015 (0,591-42,571)	0,139
Recuento de CD4+		
<200	1	
200-499	0,631 (0,432-0,921)	0,017
Desconocido	0,606 (0,175-2,106)	0,431
Carga viral plasmática		
<100.000	1	
≥100.000	1,474 (1,050-2,069)	0,025
Desconocido	2,785 (0,900-8,616)	0,075
Diagnóstico de SIDA		
No	1	
Sí	1,566 (1,086-2,259)	0,016
Anticuerpos VHC		
No	1	
Sí	2,570 (1,489-4,437)	0,001
Desconocido	1,691 (0,970-2,948)	0,064
HBsAg [n (%)]		
No	1	
Sí	2,174 (1,138-4,152)	0,019
Desconocido	0,631 (0,387-1,027)	0,064
Régimen TAR		
2 ITIAN + 1 ITINN	1	
2 ITIAN + 1 IP/r	1,054 (0,750-1,481)	0,762
2 ITIAN + 1 INSTI	1,156 (0,525-2,548)	0,718
Otros/No especificado	0,837 (0,425-1,648)	0,606
Año de inicio del TAR		
2004-2007	1	
2008-2011	0,654 (0,455-0,939)	0,022
2012-2015	0,368 (0,198-0,683)	0,002
UDI: Usuarios de drogas inyectables. VHC: virus de la hepatitis C. HBsAg: antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. TAR: tratamiento antirretroviral. ITIAN: inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótido. ITINN: inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleótido. IP/r: inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir. INSTI: inhibidor de la integrasa.		

## E. ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA VIREMIA DE BAJO GRADO SOBRE LA INCIDENCIA DE FRACASO VIROLÓGICO

A lo largo del estudio, 280 pacientes experimentaron fracaso virológico, durante un total de 18.555 personas-años de seguimiento; de los cuales 256 ocurrieron en el grupo que no desarrolló VBG, 12 en VBG50-199 y 12 en VBG200-499. Este dato corresponde con 1,5 (IC 95% 1,2 – 1,7) fallos virológicos por cada 100 personas-años de seguimiento. Además, destaca que los pacientes con VBG200-499 experimentaron una tasa mayor de FV (4,5; IC 95%, 2,5 – 7,8) en comparación con la VBG50-199 (2,3; IC 95%, 1,3 – 4,0) y la ausencia de VBG (1,4; IC 95%, 1,3 – 1,6) (tabla IV.F.3).

El porcentaje de pacientes que desarrolló FV, a los 5 años de conseguir la supresión virológica, fue del 6,6%; resultando esta cifra más elevada en sujetos con VBG200-499 (21,1%), frente a quienes se englobaron en el grupo VBG50-199 (9,2%) o quienes se mantuvieron con CVP indetectable (6,2%) (figura IV.E.1 y tabla IV.E.1).

Figura IV.E.1.- Incidencia acumulada de FV, tras alcanzar la supresión virológica, en relación con los distintos niveles de VBG.

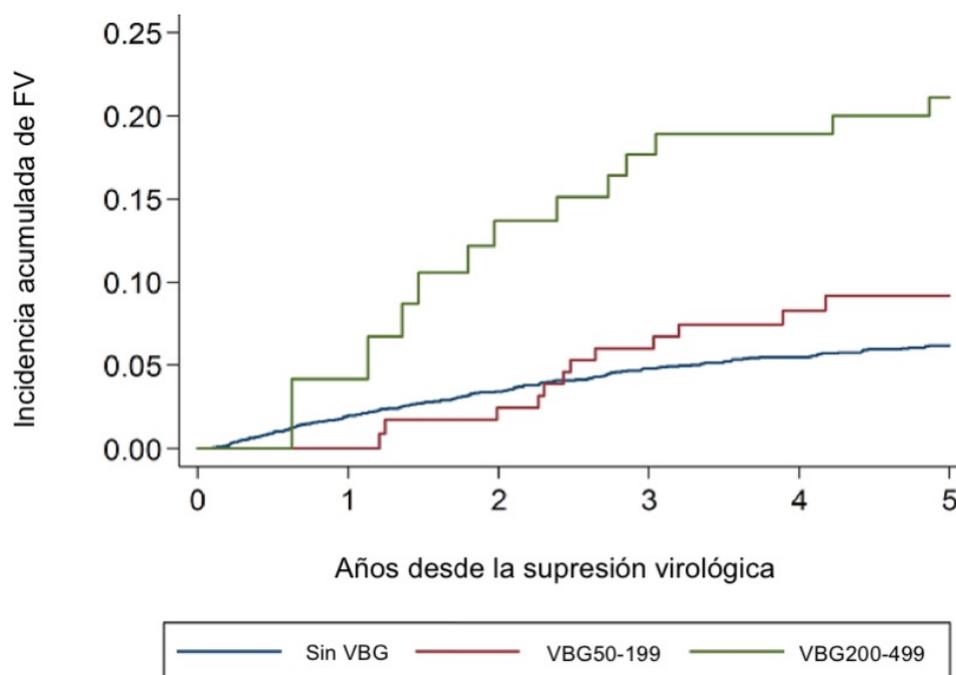


Tabla IV.E.1.- Incidencia acumulada de fracaso virológico.

	Año de seguimiento	Pacientes	Fracaso virológico	Incidencia acumulada	IC 95%
Sin VBG	0	0	0	0,0000	.
	1	4.821	108	0,0198	0,0164-0,0239
	2	3.844	63	0,0339	0,0293-0,0394
	3	3.036	51	0,0482	0,0423-0,0550
	4	2.312	19	0,0548	0,0483-0,0622
	5	1.589	15	0,0619	0,0546-0,0702
VBG50-199	0	0	0	0,0000	.
	1	106	0	0,0000	.
	2	137	3	0,0245	0,0079-0,0743
	3	131	5	0,0602	0,0305-0,1170
	4	109	3	0,0829	0,0467-0,1448
	5	85	1	0,0919	0,0532-0,1566
VBG200-499	0	0	0	0,0000	.
	1	34	1	0,0417	0,0060-0,2608
	2	56	5	0,1370	0,0611-0,2912
	3	67	3	0,1767	0,0921-0,3238
	4	73	1	0,1890	0,1022-0,3343
	5	71	2	0,2111	0,1210-0,3532

*Nótese que la incidencia acumulada se calcula sobre datos completos y se evalúa en los momentos indicados; no se calcula a partir de los agregados que se muestran a la izquierda.*

En el análisis multivariante ajustado para las características de los pacientes al inicio del TAR, la VBG200-499 se asoció con un riesgo mayor de fracaso virológico (HRa, 3,25; IC95% 1,77 – 5,99); mientras que no se encontraron diferencias entre la VBG50-199 (HRa, 1,42 IC 95% 0,78 – 2,58) y la CVP indetectable (tabla IV.F.3).

Junto a lo anterior, a la aparición de FV, también se asociaron los grupos de transmisión heterosexual y UDI, un recuento de linfocitos T CD4+ de 200-499 y los regímenes basados en IP/r. De manera opuesta, la edad igual o superior a 50 años y el inicio del TAR en 2008 o en años posteriores se ha relacionó con menor incidencia de FV (tabla IV.E.2).

Tabla IV.E.2.- Análisis multivariante para estimar el efecto de la VBG sobre el desarrollo de FV.

	HR (IC 95%)	p
Grupo VBG		
No VBG	1	
VBG50-199	1,417 (0,776-2,584)	0,256
VBG200-499	3,253 (1,768-5,986)	<0,001
Sexo		
Hombre	1	
Mujer	1,222 (0,910-1,641)	0,183
Edad		
<50	1	
≥50	0,482 (0,306-0,760)	0,002
Grupo de transmisión		
Homo/bisexual	1	
UDI	2,679 (1,551-4,627)	<0,001
Heterosexual	2,756 (1,946-3,903)	<0,001
Otro/desconocido	0,943 (0,374-2,378)	0,901
Nivel educativo		
Sin estudios o educación obligatoria	1	
Secundaria superior o universitaria	0,828 (0,620-1,106)	0,202
Desconocido	1,020 (0,661-1,576)	0,928
País de origen		
España	1	
Otro país	1,132 (0,859-1,493)	0,378
Desconocido	0,000 (0,000)	1
Recuento de CD4+		
<200	1	
200-499	1,810 (1,336-2,452)	<0,001
Desconocido	2,426 (0,819-7,181)	0,110
Carga viral plasmática		
<100.000	1	
≥100.000	1,216 (0,933-1,585)	0,149
Desconocido	1,040 (0,356-3,040)	0,943
Diagnóstico de SIDA		
No	1	
Sí	1,124 (0,800-1,580)	0,5
Anticuerpos VHC		
No	1	
Sí	1,091 (0,678-1,756)	0,719
Desconocido	0,888 (0,586-1,347)	0,577
HBsAg [n (%)]		
No	1	
Sí	1,357 (0,741-2,484)	0,322
Desconocido	0,962 (0,666-1,390)	0,836
Régimen TAR		
2 ITIAN + 1 ITINN	1	
2 ITIAN + 1 IP/r	1,999 (1,544-2,589)	<0,001
2 ITIAN + 1 INSTI	0,933 (0,365-2,387)	0,885
Otros/No especificado	1,178 (0,706-1,964)	0,531
Año de inicio del TAR		
2004-2007	1	
2008-2011	0,435 (0,330-0,573)	<0,001
2012-2015	0,170 (0,098-0,294)	<0,001
UDI: Usuarios de drogas inyectables. VHC: virus de la hepatitis C. HBsAg: antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. TAR: tratamiento antirretroviral. ITIAN: inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótido. ITINN: inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleótido. IP/r: inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir. INSTI: inhibidor de la integrasa.		

## F. ANÁLISIS DEL IMPACTO DE LA VIREMIA DE BAJO GRADO SOBRE LA INCIDENCIA DE LOS EVENTOS NO SIDA GRAVES

Durante un total de 17.577 personas-años de seguimiento, 245 sujetos sufrieron un ENOS grave. De éstos, 233 tuvieron lugar en el grupo sin VBG, 7 en VBG50-199 y 5 en VBG200-499. Este dato corresponde con una incidencia acumulada total de 1,4 (IC 95% 1,2 – 1,6) ENOS graves por cada 100 personas-años de seguimiento [Sin VBG 1,4 (IC 95%, 1,2 – 1,6), VBG50-199 1,3 (IC 95%, 0,6 – 2,8) y VBG200-499 1,6 (IC 95%, 0,7 – 3,9)] (tabla IV.F.3).

El porcentaje de pacientes que experimentó, al menos, un ENOS grave en los 5 años posteriores a alcanzar la supresión virológica fue de 6,7%; resultando similar tanto en aquellos que mantuvieron la CVP suprimida (6,8%), como en los que desarrollaron VBG50-199 (6%). En el grupo de VBG200-499 fue ligeramente superior (11%); sin embargo, tras realizar ajuste para eliminar los posibles factores de confusión mediante análisis multivariante, ni la VBG50-199 ni la VBG200-499 se asociaron con la aparición de ENOS graves (HRa 0,81; IC 95%, 0,37 – 1,75 y HRa 0,83; IC 95%, 0,34 – 2,07, respectivamente) (Figura IV.F.1 y tabla IV.F.1).

Figura IV.F.1.- Incidencia acumulada de cualquier ENOS grave, tras alcanzar la supresión virológica, en relación con los distintos niveles de VBG.

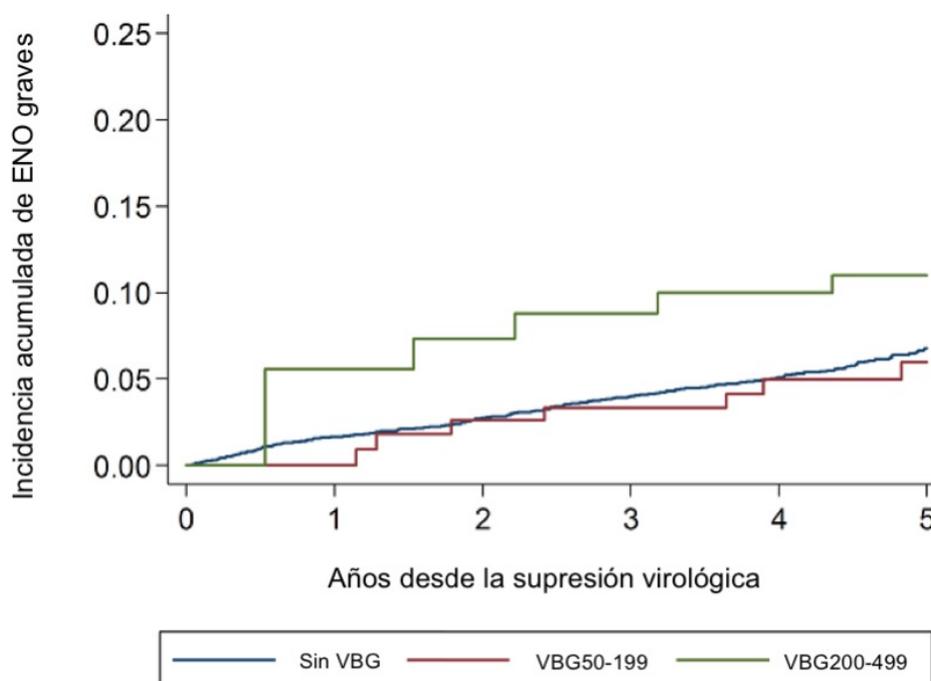


Tabla IV.F.1.- Incidencia acumulada de ENOS graves.

	Año de seguimiento	Pacientes	ENOS graves	Incidencia acumulada	IC 95%
Sin VBG	0	0	0	0,0000	.
	1	4.494	84	0,0163	0,0132-0,0202
	2	3.638	46	0,0276	0,0233-0,0327
	3	2.898	42	0,0402	0,0346-0,0466
	4	2.206	29	0,0511	0,0444-0,0587
	5	1.553	32	0,0676	0,0592-0,0773
VBG50-199	0	0	0	0,0000	.
	1	102	0	0,0000	.
	2	131	3	0,0260	0,0085-0,0787
	3	132	1	0,0332	0,0125-0,0863
	4	111	2	0,0495	0,0225-0,1071
	5	91	1	0,0599	0,0288-0,1220
VBG200-499	0	0	0	0,0000	.
	1	36	1	0,0556	0,0080-0,3336
	2	59	1	0,0734	0,0160-0,3016
	3	78	1	0,0881	0,0242-0,2932
	4	85	1	0,0998	0,0316-0,2914
	5	87	1	0,1101	0,0386-0,2925

*Nótese que la incidencia acumulada se calcula sobre datos completos y se evalúa en los momentos indicados; no se calcula a partir de los agregados que se muestran a la izquierda.*

La incidencia de ENOS graves fue mayor en personas con una edad superior o igual a 50 años y en las coinfectadas con el virus de la hepatitis C. Contrariamente, un recuento de linfocitos T CD4+ mayor de 200 células/mm<sup>3</sup>, el comienzo del TAR durante el período 2012-2015 y la procedencia de un país distinto a España se asociaron con una menor incidencia de ENOS graves (tabla IV.F.2).

Tabla IV.F.2.- Análisis multivariante para estimar el efecto de la VBG sobre el desarrollo de ENOS graves.

	HR (IC 95%)	p
Grupo VBG		
No VBG	1	
VBG50-199	0,809 (0,374-1,748)	0,590
VBG200-499	0,834 (0,336-2,070)	0,695
Sexo		
Hombre	1	
Mujer	0,839 (0,570-1,233)	0,371
Edad		
<50	1	
≥50	2,643 (1,961-3,562)	<0,001
Grupo de transmisión		
Homo/bisexual	1	
UDI	0,881 (0,511-1,518)	0,648
Heterosexual	1,000 (0,701-1,427)	0,999
Otro/desconocido	1,057 (0,535-2,086)	0,874
Nivel educativo		
Sin estudios o educación obligatoria	1	
Secundaria superior o universitaria	0,749 (0,551-1,020)	0,067
Desconocido	1,121 (0,731-1,719)	0,599
País de origen		
España	1	
Otro país	0,639 (0,449-0,910)	0,013
Desconocido	0,000 (0,000- )	1,000
Recuento de CD4+		
<200	1	
200-499	0,723 (0,531-0,985)	0,040
Desconocido	0,491 (0,126-1,916)	0,306
Carga viral plasmática		
<100.000	1	
≥100.000	1,291 (0,980-1,703)	0,070
Desconocido	1,319 (0,373-4,665)	0,668
Diagnóstico de SIDA		
No	1	
Sí	0,991 (0,696-1,411)	0,959
Anticuerpos VHC		
No	1	
Sí	2,305 (1,459-3,642)	<0,001
Desconocido	1,131 (0,743-1,721)	0,565
HBsAg [n (%)]		
No	1	
Sí	1,610 (0,836-3,103)	0,155
Desconocido	1,184 (0,821-1,707)	0,367
Régimen TAR		
2 ITIAN + 1 ITINN	1	
2 ITIAN + 1 IP/r	1,079 (0,807-1,442)	0,608
2 ITIAN + 1 INSTI	1,233 (0,700-2,171)	0,469
Otros/No especificado	1,482 (0,894-2,456)	0,127
Año de inicio del TAR		
2004-2007	1	
2008-2011	0,913 (0,673-1,239)	0,560
2012-2015	0,517 (0,314-0,851)	0,010
UDI: Usuarios de drogas inyectables. VHC: virus de la hepatitis C. HBsAg: antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. TAR: tratamiento antirretroviral. ITIAN: inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótido. ITINN: inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleótido. IP/r: inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir. INSTI: inhibidor de la integrasa.		

Tabla IV.F.3.- Tasas de incidencia y Cocientes de riesgo crudos y ajustados de evento combinado SIDA/muerte, fracaso virológico y ENOS grave según la presencia de VBG.

	n	Seguimiento (personas- años)	Tasa (IC 95%) (100 personas-años)	HR cruda (IC 95%)	P	HR ajustada (IC 95%)*	P
<b>Evento SIDA/muerte</b>							
VBG							
No VBG	154	18.235	0,8 (0,7-1,0)	1,00	<0,001	1,00	0,01
VBG50-200	8	567	1,4 (0,7-2,8)	1,84 (0,89-3,82)		1,44 (0,69-3,03)	
VBG200-499	9	315	2,9 (1,5-5,5)	3,65 (1,81-7,38)		2,89 (1,41-5,92)	
<b>Fracaso virológico</b>							
VBG							
No VBG	256	256	1,4 (1,3-1,6)	1,00	<0,001	1,00	<0,001
VBG50-200	12	12	2,3 (1,3-4,0)	1,65 (0,92-2,98)		1,42 (0,78-2,58)	
VBG200-499	12	12	4,5 (2,5-7,8)	3,27 (1,80-5,93)		3,25 (1,77-5,99)	
<b>ENOS grave</b>							
VBG							
No VBG	233	233	1,4 (1,2-1,6)	1,00	0,94	1,00	0,81
VBG50-200	7	7	1,3 (0,6-2,8)	1,00 (0,47-2,15)		0,81 (0,37-1,75)	
VBG200-499	5	5	1,6 (0,7-3,9)	1,17 (0,47-2,87)		0,83 (0,34-2,07)	
* Ajustada por sexo (masculino, femenino), edad (<50, ≥50), grupo de transmisión (homo/bisexual, UDI, heterosexual, otro/desconocido), nivel educativo (no o educación obligatoria, secundaria superior o universidad, desconocido), país de origen (España, otro país, desconocido), recuento de linfocitos CD4+ (<200 células/mm <sup>3</sup> , ≥200 células/mm <sup>3</sup> , desconocido), carga viral plasmática (<100.000 copias/ml, ≥100.000 copias/ml, desconocido), diagnóstico de SIDA (no, sí), anticuerpos del VHC (no, sí, desconocido) y antígeno de superficie de la hepatitis B (no, sí, desconocido) al inicio del TAR, régimen de TAR (2 ITIAN + 1 ITINN, 2 ITIAN + 1 IP, 2 ITIAN + 1 INSTI, otro/no especificado) y el año de inicio del TAR (2004-2007, 2008-2011, 2012-2015).							

## **V. DISCUSIÓN**



## A. CARACTERÍSTICAS DE LA COHORTE

Nuestra cohorte se compone de una muestra constituida principalmente por personas jóvenes y con predominio masculino en la que las relaciones sexuales suponen la vía de contagio predominante, resultando el grupo más numeroso el de hombres que mantienen sexo con hombres (HSH) y/o prácticas bisexuales, seguidos por aquellos que, únicamente, mantienen relaciones heterosexuales. En este sentido, cabe destacar el bajo porcentaje de usuarios de drogas inyectables (UDI). Junto a ello, encontramos una proporción apreciable de pacientes procedentes de otros países.

Por otro lado, hemos objetivado que casi una tercera parte de los infectados presentan un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 200 células/mm<sup>3</sup> en el momento del diagnóstico; aunque sólo el 13% reunían criterios de SIDA. El 80% de los casos comenzaron tratamiento antirretroviral en el año 2008 o posteriormente. Para poder extrapolar nuestros resultados, sería importante reflexionar sobre la representatividad de la muestra estudiada en relación a la población española infectada por el VIH, para los objetivos concretos de este proyecto de investigación.

La cohorte de la Red Española de Investigación en SIDA es una cohorte multicéntrica que tiene una distribución geográfica amplia en la que se recoge información de la mayoría del territorio español y en la que se incluyen pacientes consecutivos con una situación inmunoviológica diversa, pero que no han sido tratados previamente con antirretrovirales. La cohorte no es por tanto representativa de todo el espectro de pacientes con VIH/SIDA que se atienden en nuestro entorno, ya que no se incluyen personas con enfermedad de larga evolución, expuestos durante mucho tiempo al TAR, y que en general tienen mayor edad que los pacientes con diagnóstico más reciente. Sin embargo, el objetivo de esta investigación era estudiar la respuesta al TAR y en particular la frecuencia de viremia de bajo grado y sus consecuencias y por eso nuestro interés se centraba en los pacientes que inician TAR que son precisamente los que se incluyen en la CoRIS.

En una encuesta realizada en 15 centros de atención ambulatoria de pacientes con infecciones de transmisión sexual entre los años 2000 y 2013, el rango de edad osciló entre 25 a 34 años y, a lo largo del período analizado, la mayor proporción de nuevos diagnósticos estuvo relacionado con las prácticas sexuales, sobre todo, en HSH; con un descenso acusado

de los casos relacionados con el uso de drogas inyectables (del 46,3% en el año 2000 al 0,5% en 2013). Por último, resaltamos que la proporción de personas cuyo país de procedencia era distinto al nuestro creció desde un 21,3% en 2000 hasta un 48,3% en 2007 y se estabilizó a partir de 2008(203).

Como datos complementarios más recientes, disponemos de la actualización realizada a comienzos de 2018 del informe de vigilancia epidemiológica del VIH y SIDA en España. De las nuevas notificaciones recogidas durante el año 2017 en todo el territorio nacional, el 84,6% correspondían a hombres y la mediana de edad fue de 35 años (RIC, 28-44). La vía de transmisión más frecuente fue la sexual (54,3% HSH y 28,2% heterosexual), con un porcentaje de 3,1% de usuarios de drogas por vía parenteral. Junto a ello, el 36,1% de los nuevos diagnósticos se produjo en población residente en nuestro país, pero cuya procedencia original no era España. Finalmente, la mediana de linfocitos T CD4+ fue de 366 células/mm<sup>3</sup> (RIC, 176-570) y el 27,4% de los casos, en términos inmunológicos, se calificó como «enfermedad avanzada», definida ésta como un valor de linfocitos T CD4+ inferior a 200 células/mm<sup>3</sup>(204).

Este mismo documento se destaca que las tasas de diagnósticos recientes de VIH son similares a las de los países europeos de nuestro entorno, aunque superan la media de Europa Occidental. Por tanto, los registros de nuestra muestra son similares a los encontrados en el conjunto de las personas infectadas por VIH en nuestro país y a los de nuestro vecinos europeos, lo que supone un valor añadido frente a otros trabajos recientes que parten de ciertos estratos seleccionados(205).

## **B. PREVALENCIA DE LA VIREMIA DE BAJO GRADO Y FACTORES ASOCIADOS**

En respuesta al primer objetivo del presente estudio, podemos afirmar que la prevalencia de VBG encontrada en nuestra muestra (6,8%) concuerda con el rango observado en otras cohortes de Europa y Estados Unidos (4-10%)(103–105,116), situando a España en un panorama similar al de nuestro entorno económico y social.

La variabilidad reflejada por los distintos trabajos, muy probablemente, se debe a la disparidad de los criterios utilizados para definir la VBG, la inclusión o no de los «blips» y las

características de los pacientes estudiados. En nuestro estudio no incluimos los repuntes aislados de viremia o «blips»; sin embargo, debemos destacar que, hasta la fecha, existe gran disparidad en cuanto a resultados. Por un lado, diversos autores concluyen que, a pesar de su frecuencia, no se asocian a consecuencias adversas relevantes(70,168,206); mientras que otros trabajos matizan tales datos al apreciar que los «blips» se asocian de forma independiente al desarrollo de fracaso virológico en función de si sus recuentos son superiores a 200 copias/ml (207),  $\geq 400$  copias/ml(167,176) o mayores a 500 copias/ml(104).

Uno de los hallazgos del estudio fue que el tiempo de seguimiento se incrementó progresivamente en función de la presencia de VBG y de su intensidad, de tal manera que la mediana de seguimiento después de la supresión viral fue de 3,5 años (RIC, 1,5 – 5,5) en pacientes que no experimentaron VBG; 4,9 años (RIC, 3,5 – 7,2) en aquellos englobados en el grupo VBG50-199 y 6,3 años (RIC, 4,8 – 8,3) en aquellos que experimentaron, como mínimo, un episodio de VBG200-499. La conclusión apriorística que podríamos extraer de estos datos es que la probabilidad de aparición de VBG es mayor a medida que se prolonga el tiempo de evolución de la infección. No obstante, el tiempo de seguimiento no fue una de las variables asociadas con un mayor riesgo de VBG en los análisis de nuestro estudio, aunque sí que influyó la época en que inició el TAR y pauta de tratamiento empleada, como veremos más adelante.

De igual modo, se incrementa el número de controles de CVP realizados a cada uno de los grupos, hecho que se explica por el mayor tiempo de seguimiento; pues la mediana de tiempo transcurrido entre determinaciones consecutivas de CVP fue muy similar en los tres grupos. Esto último, además, pone de manifiesto que, a pesar del amplio número de centros participantes, no existe una disparidad apreciable a la hora de realizar el control a estos pacientes.

En relación con los factores asociados al desarrollo de VBG, en nuestro trabajo, el análisis multivariante muestra una relación significativa con los esquemas que emplean un IP/r como tercer fármaco, la CVP  $\geq 100.000$  copias/ml al comienzo del tratamiento y a su inicio antes del año 2008. En cambio, la aparición de VBG fue menos probable en aquellos sujetos con un recuento de linfocitos T CD4+  $\geq 200$  células/mm<sup>3</sup>, el sexo femenino y los esquemas basados en los inhibidores de la integrasa.

Estas observaciones sugieren que el momento de inicio de la TAR y el tipo de régimen farmacológico utilizado podrían influir en la aparición de este fenómeno. Además, son coincidentes con trabajos como el del Hospital Universitario de Gante(67), que también encuentra relación con el sexo masculino, el empleo de IP y con una CVP elevada en el momento de inicio del tratamiento. Este último aspecto, también es destacado por otros investigadores(109,110) y podría enmarcarse en la misma lógica que la relación que mantiene con una mayor tendencia al FV, como ya mencionamos en la revisión inicial.

Continuando con el análisis de las condiciones ligadas al desarrollo de VBG, merece especial detenimiento el nexo detectado entre ésta y las pautas que incluyen IP/r, al ser uno de los aspectos más controvertidos en la literatura. Además de los resultados belgas, los grupos de Taiwo, la cohorte suiza y la *REACH Adherence Monitoring Cohort* también observan tal asociación(105,112,113); de los grandes estudios, únicamente la cohorte ART-CC disiente en este sentido(116). Esta tendencia no permite establecer una relación causal, pero puede conducir al planteamiento de diversas hipótesis. En primer lugar, a cuestionar la eficacia de los IP y, en segundo, a pensar que los hallazgos se deban a que el mayor uso de IP en pacientes con baja adherencia, dada su alta barrera genética, sea la causa subyacente a este fenómeno. Respecto a la primera cuestión, podemos afirmar que son múltiples los estudios que avalan la eficacia de esta familia terapéutica(208) y, en lo concerniente a la segunda, resaltaremos los resultados de la *REACH Adherence Monitoring Cohort*. Según éstos, tanto los IP, como un menor grado de adherencia se asociaron a un riesgo mayor de VBG (HR 1,1;  $p=0,05$ ); sin embargo, no se observaron diferencias en el grado de adherencia entre los pacientes tratados con IP y el resto.

Otra posible explicación reside en el hecho de que en los estudios se recoja un porcentaje importante de IP más antiguos no potenciados, menos potentes en controlar la replicación viral, con mayor toxicidad asociada y que requerían pautas posológicas complejas(209)(210), lo que también explicaría que pautas previas a 2008 se asocien a VBG. Además, una comunicación reciente, realizada a partir de un subanálisis de nuestra misma base de datos, ha mostrado que con IP más modernos, como DRV/r, el riesgo de desarrollo de VBG es menor(211). Por consiguiente, consideramos que aún precisamos nuevos estudios que arrojen luz definitiva a dicho interrogante.

Por otro lado, resulta evidente que en los últimos años, la disponibilidad de diferentes pautas de tratamiento más sencillas y bien toleradas, incluidos los regímenes de comprimido único, ha contribuido a mejorar la adherencia(212,213) y, posteriormente, la eficacia de la TAR(214). Además, los inhibidores de la integrasa, una clase de fármacos más moderna, con alta potencia antirretroviral y un perfil de toxicidad favorable, se han convertido en fármacos preferidos para el tratamiento inicial en pacientes sin medicación previa(45). Todo ello, podría explicar el hecho de que la detección de VBG sea menor a partir de 2008.

En cuanto al deterioro de la función inmunológica y su relación con la VBG, la evidencia disponible apunta a que tal deterioro resulta un escenario favorecedor de la replicación persistente, de ahí que la condición de factor protector que, en nuestros resultados, parece ejercer el recuento de linfocitos T CD4+  $\geq 200$  células/mm<sup>3</sup> suponga un hallazgo esperado que ya había sido descrito en publicaciones previas(105,108,112). Este dato, muy probablemente, refleja un fenómeno que un grupo de clínicos italianos resume en una revisión esclarecedora(179), es decir, la replicación de baja intensidad del VIH se asocia con la activación inmunitaria persistente, situación en la que existe mayor actividad de linfocitos T CD8+ y un declive asociado de los linfocitos T CD4+. Otra revisión realizado por expertos estadounidenses también incide en este fenómeno y recoge la relación entre la VBG persistente y la activación inmune(166). En esta línea, un estudio de 832 pacientes que seguían TAR mostró que la activación media de los linfocitos T CD8+ fue mayor entre aquellos que experimentaron VBG de entre 50 y 200 copias/ml, frente a quienes mantuvieron la supresión virológica ( $p=0.016$ )(215).

Por último, la diferencia hallada en cuanto al sexo no es única en la literatura(67) y, si bien cabría plantearse que se debe a la significativa preponderancia de los varones en las diferentes muestras, diversos autores han investigado la influencia del sexo en la evolución de la infección por VIH y sus conclusiones han sido divergentes. Mientras que algunos trabajos no encontraron diferencias en cuanto a resultados virológicos, inmunológicos o clínicos después de iniciar TAR(216); otros apuntan que las mujeres pueden lograr la supresión virológica antes que los hombres y tener una respuesta más duradera(217) y, en sentido opuesto, diversos estudios aprecian tasas más altas de repunte de la CVP en las mujeres que atribuyen a una menor adherencia supeditada a factores psicosociales como la depresión(218,219).

## **C. IMPACTO DE LA VIREMIA DE BAJO GRADO SOBRE LA INCIDENCIA DE SIDA/MUERTE**

El hallazgo de mayor interés en nuestro estudio fue el hecho de que los pacientes con VBG200-499 fueron más propensos a desarrollar fracaso virológico y alcanzar el evento combinado SIDA/muerte. Por el contrario, aquellos que experimentaron VBG50-199 no se asociaron a mayor riesgo de tales eventos. Esta observación es particularmente relevante porque las implicaciones pronósticas y el manejo óptimo de los pacientes que tienen VBG continúan estando mal definidos. Tales resultados concuerdan con los citados de la cohorte italiana MASTER(118) y los de un registro nacional sueco(107); aunque en éste último trabajo, la relación entre mortalidad y VBG no alcanzó la significación estadística en el análisis multivariante final.

Además, la replicación intermitente del VIH, en este caso definida como una CVP superior a 400 copias/ml, también se asoció con un mayor riesgo de enfermedades oportunistas o muerte en el brazo de tratamiento dirigido según las cifras de linfocitos T CD4+ del estudio SMART, incluso después de reiniciar el tratamiento antirretroviral de manera continua(220).

En contraposición, debemos mencionar que en la investigación de la cohorte ART-CC, cuya metodología es paralela a la nuestra, no se halló relación entre el evento combinado SIDA/muerte y la aparición de VBG(106). Probablemente, las diferentes características en las cohortes estudiadas y las diversas metodologías empleadas en el conjunto de trabajos mencionados pueden explicar la variedad de resultados.

El valor de la CVP como marcador pronóstico está claramente establecido. Diferentes estudios han observado que los pacientes con más de 500 copias/ml tienen más probabilidades de presentar eventos clínicos, progresión de la enfermedad y muerte(221,222). Sin embargo, como ya hemos apuntado, hasta la fecha se disponía de información limitada sobre las consecuencias clínicas de experimentar VBG, un fenómeno común en pacientes que reciben TAR. Nuestras apreciaciones muestran que la progresión clínica de los pacientes con VBG depende de la magnitud de la viremia. En este sentido, hemos identificado una asociación sólida entre la VBG200-499 y el desarrollo de eventos de SIDA/muerte; mientras que la VBG50-199 no se relacionó significativamente con la

progresión clínica. Todo ello sugiere que, incluso con VBG, la carga viral detectable puede influir en los resultados clínicos.

La asociación de VBG200-499 con la incidencia de SIDA o muerte es particularmente notable. Tal hallazgo confirma que la replicación persistente del VIH de bajo grado puede acelerar la enfermedad y proporciona información relevante que apoya la definición de fracaso virológico como una CVP superior a 200 copias/ml, que establecen las guías británicas y estadounidenses.

Además, a la aparición de eventos SIDA/muerte se asoció la edad de 50 años o superior, una CVP al inicio del TAR superior o igual a 100.000 copias/ml, el diagnóstico inicial de SIDA y la coinfección por VHC, todos ellos, factores cuya relación con la progresión de la enfermedad es conocida(95,223).

En sentido opuesto, resultaron factores protectores el inicio del TAR del año 2008 en adelante y un recuento inicial de linfocitos T CD4+ superior o igual a 200 células/mm<sup>3</sup>. Ello puede explicarse por el hecho de que nuestra muestra es una cohorte contemporánea en la que muchos pacientes se incluyeron en la era actual de TAR, caracterizada por una tendencia creciente a un inicio más temprano de la terapia; así como un uso creciente de nuevos medicamentos y esquemas terapéuticos eficaces.

#### **D. IMPACTO DE LA VIREMIA DE BAJO GRADO SOBRE LA INCIDENCIA DE FRACASO VIROLÓGICO**

Como anticipamos en el epígrafe anterior, la incidencia de fracaso virológico fue mayor en los pacientes que experimentaron VBG200-499 en comparación con aquellos que mantuvieron la carga viral suprimida o, únicamente, registraron VBG50-199. Nuestros datos están en consonancia, como se detalla a continuación, con estudios previos en los que se ha documentado la asociación de la VBG con el fracaso virológico, a diferencia de aquellos pacientes que mantuvieron la supresión viral o ciertos niveles de VBG.

En este sentido, son coincidentes con los resultados de la ART-CC que mostraron una fuerte asociación de la VBG200-499 con el fallo virológico posterior, mientras que la asociación con la VBG50-199 fue débil(106). Hallazgos que se ven reforzados por el ya citado registro

sueco, con diseño similar(107). También se asemejan a las conclusiones de otro equipo español, cuyo análisis de una cohorte prospectiva demostró que la VBG superior a 200 copias/ml estaba claramente asociada al FV, hecho que no se ocurría por debajo de dicho umbral(114). De igual modo, son similares a las de otros trabajos con diseño retrospectivo, aunque algunos de ellos difieren en cuanto a los rangos de CVP empleados para clasificar la VBG(68,104,112,115).

Por el contrario, un grupo investigador de Montreal (Canadá) detectó en su análisis de 1300 pacientes que, tanto la VBG50-199, como la VBG200-499 persistentes durante al menos 6 meses, se asociaron con un mayor riesgo de fracaso virológico, definido como una CVP superior a 1000 copias/ml, en comparación con los pacientes que mantuvieron una CVP indetectable. Sin embargo, a diferencia de nuestro estudio, en el que sólo se incluyeron en el análisis los pacientes que iniciaron TAR y alcanzaron la supresión viral sostenida durante un mínimo de 6 a 9 meses, los investigadores canadienses incluyeron sujetos que tenían, al menos, una medición de CVP y habían recibido cualquier TAR durante 12 meses o más.

Más recientemente, una cohorte que analizó a 2006 individuos pertenecientes a las fuerzas armadas estadounidenses también concluyó que aquellos con VBG50-199 o superiores se asociaron a la aparición de fracaso virológico. No obstante, la procedencia de la muestra supone un potencial sesgo de selección y limita la extrapolación de los datos(205).

Esta disparidad de datos también se mantiene si cambiamos de escenario geográfico y socioeconómico. Así, disponemos de los datos de una cohorte africana contemporánea, que aúna pacientes de Uganda, Kenia, Tanzania y Nigeria; y de la cual se extrae un mayor riesgo de FV en VBG200-499 frente a VBG inferior a 200 copias/ml y a CVP suprimida (HR 11,81, IC95%: 1,08-3,02)(224). Por otro lado, un gran estudio multicéntrico sudafricano (70.930 pacientes) concluye que el riesgo de FV fue 5 veces mayor para los pacientes con VBG entre 400 y 999 copias/ml, y 2 veces mayor para aquellos con VBG entre 51 y 199 copias/ml, en comparación con los sujetos que mantuvieron la supresión virológica (<50 copias/ml). Curiosamente, el riesgo de FV se incrementó significativamente incluso después de una única determinación de CVP entre 51 y 199 copias/ml(83).

De forma añadida, los factores asociados a una mayor o menor probabilidad de FV también encuentran reflejo en análisis previamente publicados. En el primer caso, encontramos los

grupos de transmisión heterosexual y UDI, un recuento de linfocitos T CD4+ de entre 200 y 499 células/mm<sup>3</sup> y los regímenes basados en IP/r; mientras que, en el segundo, se encuadran el inicio del TAR en 2008 o en años posteriores y la edad igual o superior a 50 años.

En definitiva, a pesar de que la falta de coherencia entre las definiciones de FV y VBG hace que la comparación entre los diversos estudios resulte un desafío, los resultados de nuestro trabajo sugieren firmemente que la viremia de bajo grado de entre 200 y 499 copias/ml debe considerarse como una señal de advertencia de FV. Debido a estos hallazgos, la relevancia de la VBG en la evolución de la infección en los pacientes infectados por el VIH que reciben TAR debe reconocerse y considerarse en la toma de decisiones clínicas.

Como hemos comentado con anterioridad, existen diferencias significativas entre las directrices de la mayoría de los países europeos y las del mundo anglosajón a la hora de definir el fracaso virológico y establecer pautas de actuación en tal escenario. Nuestros hallazgos relativos a la asociación entre eventos SIDA/muerte y el FV con viremias de bajo grado a partir de 200 copias/ml vendrían a reforzar el planteamiento británico y estadounidense que establecen el umbral de FV en 200 copias/ml, cifra que indicaría la necesidad de realizar ajustes en el TAR.

## **E. IMPACTO DE LA VIREMIA DE BAJO GRADO SOBRE LA INCIDENCIA DE LOS EVENTOS NO SIDA GRAVES**

Otro de los aspectos relevantes de nuestro trabajo es el análisis específico de los ENOS graves y su relación con la VBG. Los escasos estudios anteriores que abordan este punto no han encontrado datos que establezcan tal asociación(106,125), como tampoco lo hemos hecho nosotros.

Los niveles de carga viral plasmática se han correlacionado con ciertos marcadores de inflamación y coagulación, como la IL-6 y el dímero D, que son factores asociados a un mayor riesgo de eventos cardiovasculares y mortalidad por cualquier causa(145). Además, en el estudio SMART, se observó una relación significativa entre las variaciones de la CVP y los niveles de IL-6 y dímero D(145). La viremia residual por VIH se ha relacionado con las cifras circulantes de IL-6 en un estudio transversal(225) y se ha especulado que el VBG podría ser

uno de los responsables de la inflamación y la activación inmune que contribuiría a la morbimortalidad asociada a los ENOS(226,227).

A pesar de dicha evidencia y de que una cohorte de los Estados Unidos ha relacionado estrechamente la exposición acumulativa a la replicación del VIH (fenómeno que tiene lugar durante los episodios de VBG) con la mortalidad global en los pacientes infectados por el VIH(228) y teniendo en cuenta que, cada vez es más probable la relación de ésta última con enfermedades cardiovasculares, hepáticas, renales y ciertos cánceres no definitorios de SIDA, la literatura científica disponible no confirma este supuesto.

Quizás, el tamaño y el tiempo de seguimiento de nuestra cohorte sean todavía escasos para que se hayan producido un número suficiente de ENOS graves, como para que los análisis puedan detectar esta asociación, en caso de existir. Esto, unido a que la CoRIS es una cohorte contemporánea en la que muchos pacientes se incluyeron durante los últimos años, etapa en la que se presta mayor atención a la prevención y el manejo de las comorbilidades, pudiera explicar, en parte, estos resultados.

## **F. FORTALEZAS Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

Las fortalezas principales de nuestro análisis radican en la naturaleza contemporánea de la cohorte, que incluye una mayoría de pacientes diagnosticados en la era actual, su condición *naïve* en el momento del ingreso, y la disponibilidad de datos precisos sobre el uso de fármacos antirretrovirales y diversos factores demográficos o relacionado con la infección por el VIH.

Del mismo modo, hemos de destacar el gran tamaño muestral y un período de seguimiento considerable tras alcanzar la supresión virológica (mediana de 3,5 años en pacientes que no experimentaron VBG, 4,9 años en aquellos que desarrollaron VBG50-199 y 6,3 años en el caso de VBG200-499), que aún así podría haber resultado insuficientes para estimar el efecto de la VBG sobre eventos poco frecuentes como los ENOS. A ello se le une la determinación regular de CVP en todos los grupos (2,5-2,8 determinaciones/año), lo que refuerza la validez de nuestras observaciones y, de manera indirecta, indica una práctica clínica relativamente homogénea en los controles virológicos de los pacientes en TAR, a pesar de tratarse de una cohorte multicéntrica. Probablemente, ello radique en la amplia difusión y aceptación de las

directrices para el tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el VIH que elabora el Grupo de Estudio del SIDA de la SEIMC.

Asimismo, la similitud de la muestra empleada con las características generales de la población española infectada por el VIH y, por ende, con la de los países europeos homologables al nuestro, refuerza la validez externa de los resultados.

Por otro lado, nuestro estudio adolece de ciertas limitaciones. En primer lugar, carecemos de datos relativos a la presencia de mutaciones de resistencia a los distintos grupos terapéuticos. Diversos trabajos previos han concluido que los pacientes que experimentan VBG tienen un mayor riesgo de desarrollar resistencia al tratamiento antirretroviral(129,130,229). Así, en una de las mencionadas publicaciones francesas(129) se observó que 11 de 37 pacientes tratados con episodios de VBG por debajo de 500 copias/ml desarrollaron, al menos, una mutación de resistencia. Se trata de un hallazgo importante que puede condicionar la evolución de la enfermedad y las opciones de tratamiento.

Con posterioridad, dos publicaciones fruto de colaboración entre centros de Estados Unidos y Canadá encontraron que las resistencias emergentes a los fármacos antivirales, en pacientes que experimentaron VBG, estaban fuertemente asociadas con el fracaso virológico posterior(126,127). No obstante, dichos estudios estratifican a los pacientes con VBG de manera distinta a como lo hemos realizado en el presente análisis. De entre la revisión bibliográfica realizada, sólo una investigación estadounidense establece que la VBG en pacientes que reciben tratamiento antirretroviral puede promover la selección de mutaciones de resistencia en los casos de VBG50-199(105).

Otra de nuestras limitaciones, al tratarse de un estudio multicéntrico, radica en la diversidad de pruebas de medición de CVP empleadas. Es bien sabido que el tipo de técnica puede influir en los valores de VBG, pues los métodos de cuantificación altamente sensibles han mostrado discrepancias entre ellos, aspecto especialmente evidente cuando se trata de niveles bajos de viremia(54,65,66,170,194). En todos los centros que aportaron pacientes a nuestra cohorte se emplearon técnicas con un límite de cuantificación inferior a 50 copias/ml. No obstante, la falta de datos precisos sobre los sistemas de cuantificación utilizados en todos los pacientes no nos permitió incluir esta variable en el análisis multivariado.

La cohorte RIS tampoco recopila datos sobre la adherencia a la medicación, factor cuya importancia han destacado otros investigadores(112). Por lo tanto, no pudimos evaluar su posible influencia en los resultados. Finalmente, el trabajo tiene las limitaciones asociadas con el uso de covariables dependientes del tiempo, pues cuando el supuesto de proporcionalidad de los riesgos no se cumple, el modelo de regresión de Cox se adapta bien al empleo de las mismas; sin embargo, esto no ocurre igual cuando pretendemos realizar estimaciones mediante el método de Kaplan-Meier(230).

## **G. APLICABILIDAD Y DESARROLLOS FUTUROS DE LA INVESTIGACIÓN**

Como ya hemos apuntado a lo largo de esta memoria, el impacto global de la VBG en la progresión de la infección por el VIH y sus resultados clínicos sigue siendo, en gran medida, desconocido. Como consecuencia carecemos de consenso sobre cómo guiar el manejo de los pacientes que experimentan este fenómeno. Ello se debe, en buena medida, a la variabilidad de la metodología empleada en investigaciones previas.

Consideramos que nuestro trabajo aporta nueva información sobre la sólida base de la CoRIS, a la vez que emplea un método analítico comparable con el de publicaciones previas(106). De esta forma, pretendemos contribuir a un cuerpo de documentación más homogéneo que permita orientar las futuras recomendaciones para pacientes que desarrollen viremia de bajo grado.

En ese sentido, los resultados de esta trabajo ya se han transmitido a la comunidad científica(231) y GeSIDA los ha incorporado a la última versión de sus guías de práctica clínica(45).

De cara al futuro, el hallazgo de que aquellos pacientes con VBG200-499 fueron más propensos a desarrollar fracaso virológico y a alcanzar el evento combinado SIDA/muerte, resultado no apreciado por otros grupos, invita a la realización de nuevas investigaciones que aclaren tal discordancia; así como a considerar la intensificación del esfuerzo terapéutico en pacientes con VBG entre 200 y 499 copias/ml. En este sentido, resultaría de especial interés la realización de un ensayo clínico que evaluase si una intervención farmacológica orientada

a revertir la aparición de viremia de bajo grado persistente mejoraría el pronóstico de este grupo de pacientes.

Del mismo modo, el hecho de que el tiempo de seguimiento haya podido ser determinante para no encontrar relación entre la VBG y la aparición de ENOS supone un estímulo para continuar con este tipo de análisis, una vez dispongamos de mayores períodos de seguimiento. Esto también nos permitiría aclarar si la ausencia de relación entre la VBG50-199 con los eventos estudiados es fruto de un seguimiento limitado o, realmente, dicho nivel de viremia carece de impacto clínico o virológico.

Con el cuerpo de evidencia científica disponible hasta la fecha, cabe considerar que cualquier grado de viremia persistente o intermitente puede tener consecuencias en términos de inmunoactivación, inmunosenescencia, desarrollo de comorbilidades, aparición de mutaciones de resistencia y, por tanto, de fracaso virológico y mayor morbimortalidad. Por tanto, esclarecer el impacto del fenómeno de VBG seguirá siendo un estímulo para futuras investigaciones.

Finalmente, a nivel experimental, se podrían plantear estudios que nos permitan comprender mejor los mecanismos que dan lugar a la aparición de la VBG e, incluso, intentar predecir la misma. Así, se podría evaluar si el empleo de técnicas de medición de la CVP más sensibles que las utilizadas en la práctica clínica actual, que permitan detectar VMBG o residuales; la medición de biomarcadores de activación celular o el estudio de potenciales reservorios del virus, como las células mononucleares de sangre periférica, nos permitirían anticiparnos a la incidencia de VBG y, en el futuro, controlar su desarrollo.



## **VI. CONCLUSIONES**



## A. CONCLUSIONES

- La prevalencia del fenómeno de viremia de bajo grado en los pacientes infectados por VIH, que reciben tratamiento antirretroviral, procedentes de la cohorte de la Red Española de Investigación de SIDA se sitúa en el 7%. Esta proporción es similar al de trabajos realizados en medios equiparables al nuestro y sitúa a España en un panorama similar al de su entorno económico y social.
- La viremia de bajo grado persistente de entre 200 y 499 copias/ml resulta un importante factor pronóstico, al asociarse a mayor propensión a desarrollar el evento combinado SIDA/muerte, frente a la viremia de bajo grado de entre 50 y 199 copias/ml o a la supresión virológica sostenida.
- Del mismo modo, la incidencia de fracaso virológico es mayor en los pacientes que experimentan viremia de bajo grado entre 200 y 499 copias/ml en comparación con aquellos que mantienen la carga viral suprimida o entre 50 y 199 copias/ml.
- En este estudio no se ha encontrado que exista relación entre la viremia de bajo grado y el desarrollo de eventos no SIDA graves.
- Los factores asociados a la aparición de viremia de bajo grado son la carga viral plasmática superior o igual a 100.000 copias/ml al comienzo del tratamiento, los esquemas de tratamiento antirretroviral que emplean un inhibidor de la proteasa como tercer fármaco y el inicio del tratamiento antes del año 2008. En cambio, la aparición de viremia de bajo grado es menos probable en aquellos pacientes con un recuento de linfocitos T CD4+  $\geq 200$  células/mm<sup>3</sup>, el sexo femenino y las pautas de tratamiento basadas en los inhibidores de la integrasa.



# **ANEXOS**



## ANEXO I

**Definición de evento combinado SIDA/muerte:** producto de los eventos independientes muerte y SIDA, entendido éste último como cualquier evento clínico incluido en la categoría C del sistema de clasificación para la infección por el VIH elaborado por los *Centers for Diseases Control and Prevention*, acorde a su revisión de 1993 (tabla Anexo I.1)(232).

Tabla Anexo I.1.- Sistema de clasificación para la infección por el VIH.

<b>Categoría A</b>
Una o más de las condiciones enumeradas a continuación en un adolescente o adulto (mayor o igual a 13 años) con infección documentada por el VIH. Las condiciones enumeradas en las categorías B y C no deben haber ocurrido. <ul style="list-style-type: none"><li>- Infección por VIH asintomática.</li><li>- Linfadenopatía generalizada persistente.</li><li>- Infección aguda (primaria) por VIH con enfermedad o antecedentes de infección aguda por VIH.</li></ul>
<b>Categoría B</b>
Afecciones sintomáticas en un adolescente o adulto infectado con VIH que no están incluidas entre las entidades enumeradas en la categoría clínica C y que cumplen, al menos, uno de los siguientes criterios: <ul style="list-style-type: none"><li>a) las afecciones se atribuyen a la infección por VIH o son indicativas de un defecto en inmunidad mediada por células;</li><li>b) los médicos consideran que las condiciones tienen un curso clínico o requieren un manejo que se complica por la infección por VIH.</li></ul> Los ejemplos de afecciones en la categoría B clínica incluyen, pero no se limitan a: <ul style="list-style-type: none"><li>- Angiomatosis bacilar.</li><li>- Candidiasis orofaríngea.</li><li>- Candidiasis vulvovaginal persistente, frecuente o poco sensible a la terapia.</li><li>- Displasia cervical (moderada o grave)/carcinoma cervical <i>in situ</i>.</li><li>- Fiebre o diarrea que dura más de 1 mes.</li><li>- Leucoplasia oral vellosa.</li><li>- Herpes zoster, al menos dos episodios o que afecta a más de un dermatoma.</li><li>- Púrpura trombocitopénica idiopática.</li><li>- Listeriosis.</li><li>- Enfermedad inflamatoria pélvica.</li><li>- Neuropatía periférica...</li></ul> A efectos de clasificación, las condiciones de la categoría B tienen prioridad sobre las de la categoría A. Por ejemplo, alguien previamente tratado por candidiasis oral o vaginal persistente (y que no ha desarrollado una enfermedad de la categoría C), pero que ahora se encuentra asintomático debe clasificarse en la categoría clínica B.
<b>Categoría C</b>
Incluye las denominadas condiciones definitorias de SIDA: <ul style="list-style-type: none"><li>- Candidiasis esofágica, bronquial, traqueal o pulmonar.</li><li>- Cáncer invasivo de cuello uterino.</li><li>- Coccidiodomicosis diseminada o extrapulmonar.</li></ul>

- Criptococosis extrapulmonar.
- Criptosporidiasis crónica intestinal (más de 1 mes de duración)
- Retinitis por *Citomegalovirus* o enfermedad que afecte a órganos distintos a hígado, bazo o ganglios.
- Encefalopatía relacionada con el VIH.
- Herpes simple: úlceras (más de 1 mes de duración), bronquitis, neumonitis o esofagitis
- Histoplasmosis diseminada o extrapulmonar.
- Isosporidiasis intestinal crónica (más de 1 mes de duración).
- Sarcoma de Kaposi.
- Linfoma de Burkitt.
- Linfoma no Hodgkin.
- Linfoma cerebral primario.
- Tuberculosis pulmonar o extrapulmonar.
- Enfermedad diseminada o extrapulmonar por micobacterias atípicas.
- Neumonía por *Pneumocystis jiroveci*.
- Neumonía recurrente.
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva.
- Septicemia recurrente por *Salmonella spp.*
- Toxoplasmosis cerebral.
- Síndrome consuntivo.

A efectos de clasificación, una vez que haya ocurrido una condición de la Categoría C, la persona permanecerá clasificada en dicha categoría.

**Definición de ENOS grave:** cualquier afección cardiovascular, renal, hepática o tumoral no definitoria de SIDA, enumerada en la tabla Anexo I.2.

Tabla Anexo I.2.- Listado de ENOS graves(123,124,233).

ENOS cardiovasculares
<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Infarto agudo de miocardio:</b> se establece mediante un electrocardiograma (ECG) diagnóstico*, o bien, por la presencia de: <ul style="list-style-type: none"> <li>o Síntomas, un ECG probable** y aumento de biomarcadores cardíacos (creatinquinasa, su isoenzima MB, lactato deshidrogenasa, troponina T específica y troponina I específica).</li> <li>o Síntomas típicos, más la elevación de biomarcadores cardíacos y un ECG con signos de isquemia, o no codificables, o no disponibles.</li> </ul> <p>*ECG diagnóstico: (a) Apariencia de la onda Q. Si la onda Q es equívoca, debe ir acompañada de cambios en la onda ST o T. Todos estos cambios deben estar acompañados por la progresión de la onda T en 3 o más derivaciones; b) evolución de la elevación del ST que dura más de 24 horas y progresión de la onda T en 3 o más derivaciones.</p> <p>**ECG probable: a) Descenso ST no significativo en un registro acompañado de un descenso significativo en otro registro. b) Elevación ST no significativa en un registro acompañada de elevación significativa en otro registro c) Inversión de onda T no significativa en un registro, pero inversión significativa en otro.</p> </li> <li>- <b>Angina:</b> síntomas sugestivos de isquemia miocárdica, como dolor torácico o dolor en la mandíbula o el brazo. El dolor generalmente dura menos de 20 minutos. Debe haber cambios en el ECG que confirmen la existencia de isquemia miocárdica, como una depresión de al menos 0,5 mm del segmento ST o una inversión de la onda T de al menos 1 mm en 2 o más derivaciones contiguas.</li> <li>- <b>Insuficiencia cardíaca congestiva:</b> incluye los estadios II-IV de la New York Heart Association.</li> <li>- <b>Ictus:</b> déficit neurológico que no cambia durante las primeras 24-72 horas después del inicio.</li> <li>- <b>Ataque isquémico transitorio:</b> déficit neurológico focal debido a la isquemia de un territorio cerebral que dura menos de 24 horas.</li> </ul>

- Déficit isquémico reversible: déficit focal que dura más de 24 horas con reversión ulterior.
- Enfermedad cerebrovascular asintomática: aquellos pacientes con factores de riesgo vascular en quienes mediante examen clínico (auscultación carotídea), doppler y principalmente mediante estudios de neuroimagen, tienen lesiones isquémicas cerebrales asintomáticas (infartos silentes). Este grupo incluye también pacientes con hipodensidad en la sustancia blanca cerebral en tomografía computarizada O resonancia magnética (leucoaraiosis).
- Enfermedad arterial periférica: incluye la claudicación intermitente, índice tobillo-brazo anormal (menor de 0,9) y otros hallazgos clínicos (revascularización arterial o amputación previa).
- Muerte súbita de posible etiología coronaria: síntomas típicos, atípicos o no suficientemente descritos y antecedentes de enfermedad coronaria o evidencia de enfermedad coronaria en la autopsia.

#### ENOS renales

- Insuficiencia renal aguda: se definió como una elevación de la creatinina por encima de 1,5 mg/dL, o que alcanza 1,3 veces el valor límite superior normal, o una disminución en la tasa de filtrado glomerular (TFG) a  $<60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Si la creatinina se había elevado previamente, entonces se consideró un aumento superior a 0,5 mg en comparación con el valor anterior.
- Enfermedad renal crónica: se definió como daño renal o una TFG de menos de 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> durante 3 o más meses. El daño renal se establece por cambios anatomopatológicos o por marcadores biológicos de daño renal, incluidas anomalías en la composición de la sangre o la orina o anomalías en los estudios de imagen. La TFG se estimó utilizando la ecuación abreviada MDRD (Modification of Diet in Renal Disease).
- Tubulopatía: se definió como la presencia de, al menos, tres de las siguientes alteraciones: hipofosfatemia (fosfato sérico  $<2,7$  mg/dL), proteinuria (al menos 1+), glucosuria (al menos 1+ con glucosa sanguínea normal), acidosis metabólica (bicarbonato sérico  $<23$  mEq/L), hipocalemia (potasio sérico  $<3$  mEq/L), diabetes insípida nefrogénica, aminociduria o hipouricemia.
- Diálisis permanente.
- Realización de biopsia renal.

#### ENOS hepáticos

- Insuficiencia hepática/cirrosis: alteración grave de la síntesis hepática (albúmina  $<3,5$  mg/dl y/o fibrinógeno  $<180$  mg/dl y/o actividad de protrombina  $<50\%$  sin ninguna otra etiología subyacente) e hipertensión portal evaluada con ultrasonografía (esplenomegalia, circulación colateral o ascitis) o endoscopia (várices esofágicas o gastropatía hipertensiva) o por medida directa (gradiente mínimo de presión venosa hepática de 6 mm Hg), o antecedentes de encefalopatía hepática en un paciente con enfermedad hepática crónica, en ausencia de otras causas justificantes.
- Ascitis: presencia de líquido en la cavidad peritoneal, observada con pruebas de imagen (ultrasonografía, tomografía computarizada, resonancia magnética) o confirmada mediante paracentesis en un paciente con enfermedad hepática crónica conocida, en ausencia de otras causas justificantes.
- Encefalopatía hepática: deterioro mental (generalmente depresión del sistema nervioso central) con signos clínicos compatibles (es decir, asterixis, hiperamonemia, alteraciones propias en el electroencefalograma, etc.) en un paciente con enfermedad hepática crónica. Deben descartarse otras causas de enfermedad neurológica.
- Sangrado gastrointestinal por varices esofágicas: aparición de hematemesis o melenas con evidencia endoscópica de varices esofágicas y signos de sangrado reciente.
- Trasplante hepático.
- Carcinoma hepatocelular.

#### ENOS tumorales no definatorios de SIDA

- Cáncer anal.
- Cáncer de recto.
- Cáncer de vejiga.
- Cáncer de próstata.
- Cáncer de mama.
- Cáncer de colon.
- Cáncer de riñón.
- Carcinoma hepatocelular.
- Cáncer de pulmón.
- Cáncer de estómago.
- Cáncer uterino (excluido el cérvix).

- Cáncer de cabeza y cuello.
- Linfoma de Hodgkin.
- Leucemia.
- Melanoma.
- Seminoma.
- Angiosarcoma.
- Neoplasia cerebral.
- Mieloma múltiple.
- Otros (neoplasias malignas no incluidas en ninguno de los grupos anteriores).

## ANEXO II

### **Low level viremia is associated with clinical progression in HIV-infected patients receiving antiretroviral treatment.**

Enrique Bernal<sup>a</sup>, Jose Miguel Gómez<sup>a</sup>, Inma Jarrín<sup>b</sup>, Alfredo Cano<sup>a</sup>, Angeles Muñoz<sup>a</sup>, Antonia Alcaraz<sup>a</sup>, Arkaitz Imaz<sup>c</sup>, Jose Antonio Iribarren<sup>d</sup>, María Rivero<sup>e</sup>, Piedad Arazo<sup>f</sup>, Félix Gutierrez<sup>g</sup> and CoRIS Study Group<sup>h</sup>

<sup>a</sup> Hospital General Universitario Reina Sofía. Murcia

<sup>b</sup> Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid

<sup>c</sup> Hospital de Bellvitge. Barcelona

<sup>d</sup> Hospital de Donostia. San Sebastian

<sup>e</sup> Hospital de Navarra. Navarra

<sup>f</sup> Hospital Miguel Servet. Zaragoza

<sup>g</sup> Hospital General Universitario de Elche. Elche.

#### **Conflicts of Interest and Source of Funding:**

The RIS cohort (CoRIS) is supported by the Instituto de Salud Carlos III through the Red Temática de Investigación Cooperativa en Sida (RD06/006, RD12/0017/0018 and RD16/0002/0006) as part of the Plan Nacional R+D+I and cofinanced by ISCIII-Subdirección General de Evaluación y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) This study has been supported in part by grant from “The Fellowship Program” of Gilead Sciences and UCAM University.

None of the authors of this manuscript have conflict of interest

#### **Abstract:**

*Background:* The clinical consequences of persistent low-level viremia (LLV) in patients on antiretroviral therapy (ART) remain largely unknown.

*Objective:* To investigate the long-term impact of LLV on all-cause mortality, AIDS and non-AIDS events (NAEs), and subsequent virological failure in patients receiving ART.

*Methods:* We analyzed ART-naïve adults from the cohort of the Spanish AIDS Research Network (CoRIS) who initiated ART from 2004 to 2015 and achieved plasma viral load (VL) below 50 copies/ml within 3–9 months after ART initiation. LLV50-199 was defined as two

consecutive VL between 50 and 199 copies/ml, and LLV200-499 as two consecutive VL between 50 and 499 copies/ml with at least one between 200 and 499 copies/ml. Multivariable Cox models, modeling LLV as a time-varying covariate, were used to estimate the association of LLV with AIDS events/death, NAEs and virological failure (two consecutive VL $\geq$ 500 copies/ml) after virological suppression.

*Results:* Of 5986 patients included, 237 (4.0%) experienced LLV50–199 with no LLV200-499 and 168 (2.8%) LLV200–499. Median follow-up time after viral suppression was 3.5 [interquartile range (IQR), 1.5 – 5.5] years in patients not experiencing neither LLV50-199 nor LLV200-499, 4.9 (IQR, 3.5 – 7.2) years in those experiencing at least one episode of LLV50-199 without LLV200-499, and 6.3 (IQR, 4.8 – 8.3) years in those experiencing at least one episode of LLV200-499. One hundred seventy-one patients died or developed an AIDS event, 245 had any serious NAE and 280 had virological failure. LLV200-499 was strongly associated with a higher risk of both AIDS events/death [adjusted hazard ratio (aHR), 2.89; 95% confidence interval (CI), 1.41 – 5.92] and virological failure (aHR, 3.25; 95% CI, 1.77 – 5.99), while no differences were observed between LLV50-199 and no LLV neither for AIDS events/death (aHR, 1.84; 95% CI, 0.89 – 3.82) nor virological failure (aHR, 1.42; 95% CI, 0.78 – 2.58). LLV was not associated with the occurrence of any serious NAE.

*Conclusion:* In this cohort of HIV-positive adults receiving ART from 2004 to 2015, LLV200–499 was strongly associated with AIDS events/death and virological failure, but not with any serious NAE. Therefore, vigorous treatment should be implemented in patients with more than 200 copies/ml.

**Keywords:** Low-level viremia, virological failure, AIDS event, death, Non-AIDS event

## **Introduction**

HIV viremia is closely associated with increased progression to AIDS and death<sup>1</sup>. Following the introduction of combined antiretroviral therapy (ART), HIV-related morbidity and mortality has been drastically reduced through its ability to suppress HIV replication<sup>2</sup>. For this reason, international treatment guidelines have always aimed at maintaining an undetectable viral load<sup>3,4</sup>. Yet current viral load assays show increased sensitivity for detecting HIV viremia and there is a limited evidence base on the optimal threshold from which the patient can be presently considered to be at greater risk of developing clinical events. Reflecting the dearth of data on clinical outcomes, treatment guidelines diverge in their recommendations. The Department of Health and Human Services' (DHHS, USA)

guidelines consider 200 copies/ml as the most appropriate cut-off point. In contrast, other international guidelines consider 50 copies/ml as the most suitable threshold<sup>3,5</sup>. On the other hand, about 20% of HIV-infected patients receiving ART shows transient rebounds of viremia ("blips", generally defined as detectable viremia up to a maximum of 500 copies/ml) and 4-10% experiences persistent episodes of detectable viremia at low levels, between 50 and 500 copies / ml<sup>6-9</sup>. Although blips are not associated with a greater likelihood of virological or immune failure<sup>9-11</sup>, there are studies that show that persistent low-level viremia (LLV) is associated with a greater risk of subsequent virologic failure<sup>7,11-15</sup>, onset of drug resistance<sup>8,15-17</sup> and impaired immune status<sup>18</sup>.

However, the overall impact of LLV on clinical outcomes remains largely unknown, and it is uncertain whether LLV of <200 copies/ml confers independent risks. As a result, currently there is no consensus as how to guide management of patients experiencing LLV.

The objective of this study was to investigate the long-term impact of different levels of LLV (50-199 and 200-499 copies/ml) on the development of clinical (AIDS, non-AIDS and death events) and virological events (virological failure) among HIV-infected patients receiving ART from a Spanish contemporary nationwide cohort.

## **Methods**

### *Study population*

The cohort of Spanish AIDS Research Network (CoRIS) is an open, multicenter and prospective cohort of HIV-positive adults, naïve to antiretroviral treatment at study entry, seen for the first time from January 2004 in any of the 42 centers from 13 of 17 Autonomous Regions in Spain. Subjects agreed to participate in the study by signing an informed consent form. Ethical approval for CoRIS was granted. A complete description of CoRIS has been published elsewhere<sup>19</sup>. Briefly, CoRIS collects a minimum dataset as provided for in the cohort protocol which includes baseline and follow-up of socio-demographic, immune-virological and clinical data including ART medication, with start and stop dates, as well as reasons for drug discontinuation. Furthermore, all centers are invited to provide data on incident non-AIDS events (NAEs), including non-AIDS-defining malignancies and cardiovascular, renal, liver, psychiatric, bone and metabolic events<sup>20</sup>. Patients are followed periodically in accordance with routine clinical practice. Administrative censoring date for these analyses was November 30, 2015.

Eligible individuals were antiretroviral naïve patients who initiated ART and remained on it for at least 6 months,  $\geq 18$  years old and who achieved viral suppression, defined as viral load below 50 copies/ml, within 3-9 months after ART initiation. Patients with no follow-up after viral suppression were excluded from the analyses. Besides, for analyses on association of LLV with first occurrence of any serious NAE, we also excluded individuals who were monitored in centers not providing data on NAEs.

### *Definitions*

We defined LLV50-199 as at least two consecutive viral loads between 50 and 199 copies/ml for at least 1 month, and LLV200-499 as at least two consecutive viral loads between 200 and 499 copies/ml for at least 1 month, with at least one viral load between 200 and 499 copies/ml, after virological suppression. Following these definitions, for descriptive purposes, individuals were classified into three groups: no LLV (neither LLV50-199 nor LLV200-499 on the entire follow-up), LLV50-199 (at least one episode of LLV50-199 without LLV200-499) and LLV200-499 (at least one episode of LLV200-499).

### *Outcomes*

Outcomes of this study were (i) experiencing LLV50-199 and LLV200-499 in comparison to no LLV, and occurrence of (ii) clinical events (first AIDS event or death), (iii) first virological failure, defined as at least two consecutive viral loads more than 500 copies/ml, and (iii) first any serious NAE [non-AIDS-defining malignancies (non-ADM), cardiovascular-, renal- and liver-related] after virological suppression.

### *Statistical analysis*

A descriptive analysis of patients' characteristics at ART initiation was carried out using frequency tables for categorical variables, and median and interquartile range (IQR) for continuous variables. Differences in socio-demographic and clinical characteristics between patients who did not experience LLV and those experiencing LLV50-199 and LLV200-499 were assessed through the chi-squared test for independence for categorical variables, and the non-parametric Kruskal-Wallis tests for continuous variables.

A multivariable multinomial logistic regression model was fit to investigate sociodemographic and clinical factors associated with LLV50-199 and LLV200-499 in comparison to non-LLV.

For the analyses of association of LLV with first AIDS event/death, first virological failure and first occurrence of any serious NAE after virological suppression, follow-up started at the date of the first viral load below 50 copies/ml within 3-9 months after ART initiation and ended at the date of the event of interest, date of death, date of last study contact or administrative censoring date, whichever arose first. Analyses were right-censored 5 years after virological suppression due to low numbers of events observed thereafter.

For those three outcomes, LLV was analyzed as a time-varying covariate in which patients were included in the no LLV group from the date of viral suppression to first LLV50-199/LLV200-499 episode, in the LLV50-199 group from the first day they experienced an episode of LLV50-199 (before first LLV200-499) to date of first LLV200-499, and in the LLV200-499 group from the first day they experienced an episode of LLV200-499 to censoring date. Once patients were exposed to a higher category of LLV, they remained in this category for the remaining follow-up time.

We calculated cause-specific cumulative incidence curves and used Cox proportional hazards models stratified by center to estimate crude and adjusted hazard ratios. The proportional hazards assumption was checked graphically and by tests based on Schoenfeld residuals.

Multivariable models were adjusted for sex (male, female), age (<50, ≥50), transmission group (homo/bisexual, injecting drug use, heterosexual, other/unknown), educational level (compulsory education or not, upper secondary or university, unknown), country of origin (Spain, not Spain, unknown), CD4+ cell count (<200, ≥200, unknown), HIV-1 viral load (<100000, ≥100000, unknown) and AIDS diagnosis (no, yes), hepatitis C virus antibodies (no, yes, unknown), hepatitis B surface antigen (no, yes, unknown), ART regimen (2 NRTI [nucleoside reverse transcriptase inhibitor] + 1 NNRTI [non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor], 2 NRTI + 1 PI/r [protease inhibitor-boosted with ritonavir], 2 NRTI + 1 INSTIs [integrase strand transfer inhibitor], other/non-specified) and year of ART initiation (2004-2007, 2008-2011, 2012-2015). Wald tests were used to derive p-values. All statistical analyses were performed using Stata Software (version 14, College Station, Texas, USA).

## **Results**

A total of 5986 HIV-infected patients were included in the study. The median age was 36 years (IQR), 30-44 years, 83% were male, median (IQR) baseline CD4+ count at ART

initiation was 294 (176-411) cells/ml and 56.5% started with NNRTI-based regimens. Two hundred and thirty-seven (4.0%) experienced at least one episode of LLV50-199 with no LLV200-499 median duration 38.4 (IQR, 21.2-55.9) months) and 168 (2.8%) at least one episode of LLV200-499 median duration 38.7 (IQR, 23.4-59.3) months. Median follow-up time after viral suppression was 3.5 (IQR, 1.5 – 5.5) years in patients not experiencing neither LLV50-199 nor LLV200-499, 4.9 (IQR, 3.5 – 7.2) years in those experiencing at least one episode of LLV50-199 without LLV200-499 and 6.3 (IQR, 4.8 – 8.3) in those experiencing at least one episode of LLV200-499. The median number of viral load measurements per individual after viral suppression was 9 (IQR, 4 – 14) in the no LLV group, 15 (IQR, 10 – 21) in the LLV50-199 group and 18 (IQR, 13 – 24) in the LLV200 – 499 group, with a median interval of 4.8 (IQR, 4.0 – 5.8), 4.2 (IQR, 3.7 - 5.0) and 4.2 (IQR, 3.5 – 5.1) months between consecutive determinations, respectively.

Sociodemographic and clinical characteristics at ART initiation according to the presence and degree of LLV are shown in Table 1. Results from the multivariable analyses showed that LLV50-199, compared to no LLV, was less likely to occur in women [adjusted relative risk ratios (aRRR), 0.60; 95% confidence interval (CI), 0.46 – 0.77], in patients initiating ART with 2 NRTI + 1INSTIs (aRRR, 0.54; 95% CI, 0.29 – 1.01) and in recent periods (aRRR, 0.72; 95% CI, 0.53 – 0.99 for period 2008 – 2011 and aRRR, 0.26; 95% CI, 0.13 – 0.49 for period 2012 – 2015) and more likely to occur in patients initiating ART with  $\geq 100000$  copies/mL (aRRR, 2.43; 95% CI, 1.88 – 3.15) and in those starting with 2 NRTI + 1 PI/r (aRRR, 1.65; 1.28 – 2.12). Occurrence of LLV200-499 was associated with a viral load at ART initiation  $\geq 100000$  copies/mL (aRRR, 1.96; 95% CI, 1.37 – 2.80), PI/r containing regimens (aRRR, 2.22; 1.54 – 3.20) and presence of hepatitis C virus antibodies (aRRR, 1.61; 95% CI, 1.08 – 2.40) and was less frequent in patients with CD4 cell counts greater than 200 cells/mm<sup>3</sup> (aRRR, 0.54; 95% CI, 0.35 – 0.82) and in those initiating treatment in recent periods (aRRR, 0.56; 95% CI, 0.36 – 0.87 for period 2008 – 2011 and aRRR, 0.12; 95% CI, 0.04 – 0.35 for period 2012 – 2015) (Table 2).

#### *AIDS events or death*

During 19,117 person-years of follow-up (PYFU), 171 patients died or developed an AIDS event (154 in no LLV, 8 in LLV50-199 and 9 in LLV200-499), corresponding to 0.9 (95% CI 0.8-1.0) AIDS event/death per 100 PYFU; 0.8 (95% CI, 0.7 – 1.0), 1.4 (0.7 – 2.8) and 2.9 (1.5 – 5.5) in the no LLV, LLV50-199 and LLV200-499 groups, respectively (Table 3).

At 5 years after viral suppression, 4.2% of patients developed an AIDS event or died; this percentage was 3.9% in patients with no LLV, 6.0% in those with LLV50-199 and as high as 19.0% in those experiencing LLV200-499 (Figure 1A). In multivariable analyses, LLV200-499 was associated with a higher risk of AIDS event/death [adjusted hazard ratio (aHR), 2.89; 95% CI, 1.41 – 5.92] while no differences were observed between LLV50-199 and no LLV (aHR, 1.84; 95% CI, 0.89 – 3.82) (Table 3).

#### *Virological outcome*

During 18,555 person-years of follow-up, 280 patients experienced virological failure (256 among patients without LLV, 12 among patients experiencing LLV50–199 and 12 among patients experiencing LLV200–499), corresponding to 1.5 virological failures per 100 PYFU (95% CI, 1.3 – 1.7). Patients with LLV200-499 showed the highest rate of virological failure (4.5; 95% CI, 2.5 – 7.8) compared to patients in the LLV50-199 (2.3; 95%CI, 1.3 – 4.0) and no LLV (1.4; 95% CI, 1.3 – 1.6) groups, respectively (Table 3).

A 6.6% of patients experienced virological failure after 5 years of viral suppression and this percentage was higher in patients experiencing LLV200-499 (21.1%) than in those experiencing LLV50-199 and no LLV (9.2% and 6.2%, respectively) (Figure 1B).

After adjusting for patient characteristics at start of ART, LLV200-499 was strongly associated with virological failure (aHR, 3.25; 95% CI, 1.77 – 5.99). By contrast, no differences in virological failure were observed between LLV50-199 and no LLV groups (aHR, 1.42; 95% CI, 0.78 – 2.58) (Table 3).

#### *Non-AIDS events*

During 17,577 person-years of follow-up, 245 patients developed a serious NAE (233 among patients without LLV and 7 and 5 among patients experiencing LLV50–199 and no LLV, respectively). The overall rate of any serious NAE was 1.4 (95% CI, 1.2 – 1.6) per 100 PYFU, similar to that observed in the no LLV (1.4; 95% CI, 1.2 – 1.6), LLV50-199 (1.3; 95% CI, 0.6 – 2.8) and LLV200-499 (1.6; 95% CI, 0.7 – 3.9) groups (Table 3).

The percentage of patients experiencing any serious NAE after 5 years of viral suppression was 6.7%; this percentage was very similar in the no LLV (6.8%) and LLV50-199 (6.0%) groups and slightly higher in the LLV200-499 group (11.0%) (Figure 1C). However, after

adjusting for potential confounders in multivariable analyses, neither LLV50-199 nor LLV200-499 was associated with occurrence of any serious NAE (aHR: 0.81; 95% CI, 0.37 – 1.75 and aHR, 0.83; 95% CI, 0.34 – 2.07, respectively) (Table 3).

## **Discussion**

A remarkable proportion of the patients who achieved plasma viral load below 50 copies/ml within 3–9 months after ART initiation in this cohort, experienced an episode of LLV: LLV50-199 occurred in 4.0% and LLV 200 -499 in 2.8%. The prevalence of LLV was within the range reported in other cohorts, that has oscillated between 4 and 10%<sup>6–8</sup>, probably reflecting the disparity of criteria used to define LLV, the inclusion or not of blips in its definition, and the characteristics of the patients studied. There are multiple explanations for the LLV phenomenon, but it is generally believed to arise from the release of the virus from resting memory CD4 + T lymphocytes activated upon antigenic stimulation (19–21) or from sanctuaries compartments where ART drugs may achieve suboptimal antiretroviral concentrations (21,22). In our study, episodes of LLV were less likely to occur in patients starting ART with INSTIs-based regimens, and more likely in patients initiating ART with higher viral loads and lower CD4 cell counts, and in those starting with protease inhibitor-based regimens. Interestingly, episodes of LLV were less common in those initiating treatments in the period 2012-2015, as compared with those starting in the period 2008 – 2011. These observations may suggest that the time of ART initiation and the type of drug regimen used might influence the occurrence of this phenomenon. In the most recent period, the availability of different simple and well tolerated ART regimens, including single-tablet-regimens, has contributed to improve adherence and subsequently the efficacy of ART. In addition, integrase inhibitors, a drug-class with high antiretroviral potency and a favorable toxicity profile have emerged as preferred drugs for initial therapy in treatment naïve patients.

The most interesting findings from the study were that patients with LLV 200-499 were more likely to develop virological failure and present AIDS events or death in the long-term. In contrast, having an LLV50-199 was not associated with a higher risk of developing any of the events analyzed. This observation is particularly relevant since the prognostic implications and optimal management of patients who have LLV on ART remain poorly defined. The frequency of virological failure was greater in patients who experienced LLV200-499 copies as compared to those who were either suppressed or had LLV50-199. Our data are in line with previous studies where the association of LLV with virological

failure has been documented in patients with LLV compared to those who maintained viral suppression 7,12,13,21. In some studies (7,12), the risk of virological failure (defined as having viral load > 400-500 copies) ranged from two to five times higher in patients with LLV between 50 and 500 copies/ml. The results of the ART Cohort Collaboration (ART-CC) analyses 21 including data from 18 cohorts from Europe and North America, showed a strong association of LLV200-499 with subsequent virological failure, whereas LLV50-199 was weakly associated with virological failure, in agreement with our results. In contrast, Laprise et al. 14 found in their data analysis of 1300 patients from Montreal, Canada, that both LLV50 - 199 copies / ml and LLV200 - 499 copies / ml (persistent for at least 6 months) were associated with an increased risk of virological failure (defined as viral load > 1000 copies / ml) compared to patients who maintained undetectable viral load. However, unlike our study where only patients initiating ART who achieved and maintained viral suppression for at least 6-9 months were included in the analyses, Laprise et al. included subjects who had at least one viral load measurement and had received any antiretroviral therapy for at least 12 months 14.

The value of plasma HIV viral load as a prognostic marker has long been established. Different studies observed that patients with more than 500 copies/ml are more likely to present clinical events, disease progression and death 22,23. However, to date, limited information was available on the clinical consequences of having LLV: viral loads above 20-50 copies/ml- the detection thresholds of current assays- but below 500 copies/ml, a common event in patients receiving ART. Our results show that clinical progression of patients with LLV depends on the magnitude of viremia. We identified a strong association between LLV200-499 copies/ml and the development of AIDS events/death, whereas LLV50-199 was not significantly associated with clinical progression, thus suggesting that, even with LLV, viral burden may influence clinical outcomes.

The association of LLV200-499 with incident AIDS or death is particularly noteworthy. This finding substantiate that persistent low grade HIV replication may accelerate disease, and provides relevant information to define virological failure as a viral load above 200 copies/ml. Intermittent HIV replication was also associated with an increased risk of opportunistic diseases or death in the drug conservation arm of the Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) study even after reinitiating continuous ART<sup>24</sup>. In addition, in the SMART trial, a significant relationship was observed between

change in viral load and change in inflammatory biomarkers interleukin-6 and D-dimer, both of which were associated with all-cause mortality<sup>25</sup>. Residual HIV viremia has been correlated with circulating interleukin-6 levels in a cross-sectional study<sup>26</sup> and it has been speculated that LLV could be one of the drivers of inflammation and immune activation that might contribute to morbidity and mortality from non-AIDS events<sup>27,28</sup>; a hypothesis that, however, was not confirmed in a study of the ATHENA cohort<sup>29</sup>. We looked specifically at serious non-AIDS events in our study and did not find either any association with LLV. Most previous studies have not found a link between LLV and clinical events or mortality in patients with LLV <sup>21,29</sup>, although a strong association between the parameter viremia copy-years (a measure of cumulative exposure to HIV replication) and mortality has been reported among patients on ART in a large cohort in the United States <sup>30</sup>. The different characteristics in the studied cohorts may explain these discrepancies. CoRIS is a contemporary cohort in which many patients were included in the current ART era, characterized by an increasing trend to earlier initiation of therapy, a growing use of new ART drugs and regimens, and increasing relevance given to the prevention and management of comorbidities.

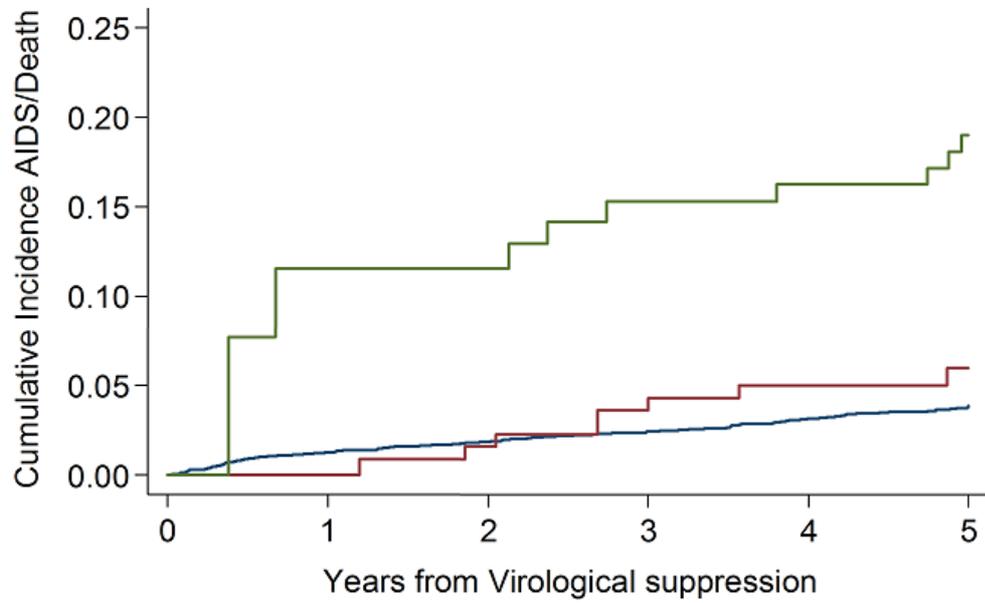
Our study has limitations. Resistance data were not available in the CoRIS database. Some previous studies have found that patients with LLV have a higher risk of developing drug resistance<sup>15,31,32</sup>. Delaugerre et al. <sup>15</sup> observed that 11 of 37 patients with persistent LLV episodes below 500 copies/ml while receiving ART developed at least one drug resistance mutation. On the other hand, González-Serna et al. <sup>17</sup> and Swenson et al. <sup>16</sup> found that emerging resistance to HIV drugs in LLV was strongly associated with subsequent virological failure. Therefore, the resistance genotype should be performed in patients with persistent LLV, and ART should be modified if resistance is detected. Another limitation of our study was disregarding the assay used for quantification of LLV. It is well known that the type of technique can influence LLV values. However, the detection threshold of 50 copies/ml was used in all centers. We also have no data on medication adherence. Therefore, we could not evaluate its potential influence on outcomes.

In conclusion, persistent LLV between 200 and 499 copies/ml is associated with an increased risk of virological failure and the occurrence of clinical events in patients receiving modern ART. These results confirm that the goal of ART should be to maintain a viral load below 200 copies/ml.

## Figures

Figure 1

A. Cumulative incidence of first AIDS event/death after virological suppression



Number at risk

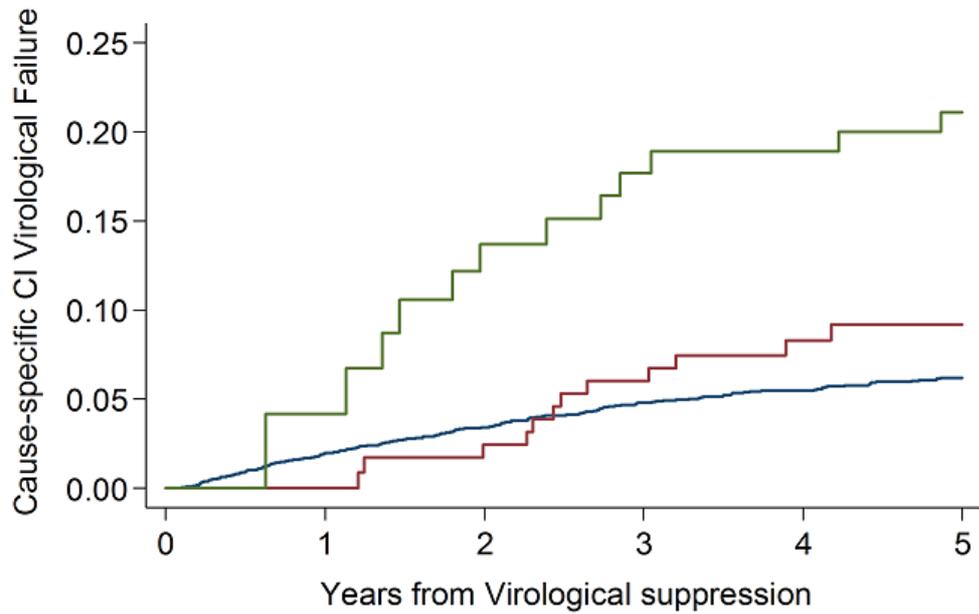
No LLV	5986	4869	3948	3165	2435	1702
LLV50-199	0	109	142	141	124	96
LLV200-499	0	37	63	79	88	88



LLV: Low-level viremia; LLV50-199: Low-level viremia between 50 and 199 copies/ml;

LLV200-499: Low level viremia between 200 and 499 copies/ml

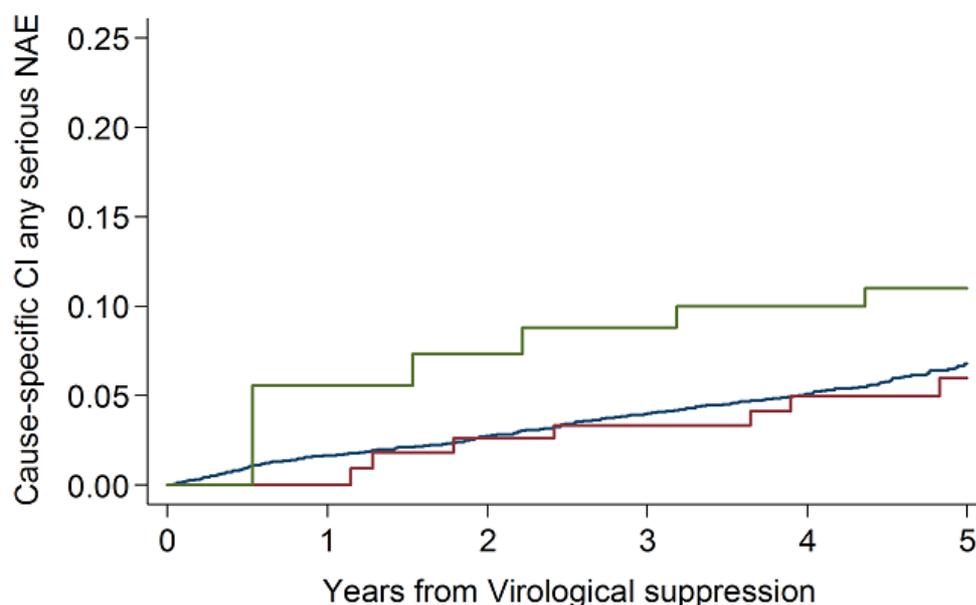
B. Cause-specific cumulative incidence of first virological failure after virological suppression



Number at risk						
	No LLV	LLV50-199	LLV200-499			
No LLV	5986	4813	3841	3032	2312	1589
LLV50-199	0	107	137	130	108	85
LLV200-499	0	35	57	66	72	71

LLV: Low-level viremia; LLV50-199: Low-level viremia between 50 and 199 copies/ml;  
 LLV200-499: Low level viremia between 200 and 499 copies/ml

C. Cause-specific cumulative incidence of first any serious non-AIDS event after virological suppression



Number at risk							
	No LLV	5531	4487	3636	2893	2206	1553
LLV50-199	0	103	132	131	110	91	
LLV200-499	0	37	60	77	86	87	

— No LLV    — LLV50-199    — LLV200-499

LLV: Low-level viremia; LLV50-199: Low-level viremia between 50 and 199 copies/ml; LLV200-499: Low level viremia between 200 and 499 copies/ml

**Tables**

Table 1. Patient's characteristics at ART initiation (N = 5986)

	No LLV (5581; 93.2%)	LLV50-199 (237; 4.0%)	LLV200-499 (168; 2.8%)	p-value
Sex [n (%)]				0.02
Male	4629 (82.9)	208 (87.8)	130 (77.4)	
Female	952 (17.1)	29 (12.2)	38 (22.6)	
Age				0.03
Median [years (IQR)]	36 (30 – 44)	37 (32 – 44)	39 (32 – 46)	
<50	4898 (87.8)	203 (85.6)	138 (82.1)	0.06
≥50	683 (12.2)	34 (14.4)	30 (17.9)	
Transmission group [n (%)]				<0.001
Homo/bisexual	3250 (58.2)	130 (54.8)	71 (42.3)	
Injecting drug use	393 (7.0)	26 (11.0)	19 (11.3)	
Heterosexual	1758 (31.5)	70 (29.5)	68 (40.5)	
Other/unknown	180 (3.2)	11 (4.6)	10 (5.9)	
Educational level [n (%)]				0.08
No or compulsory education	1824 (32.7)	91 (38.4)	69 (41.1)	
Upper secondary or university	2837 (50.8)	110 (46.4)	76 (45.2)	
Unknown	920 (16.5)	36 (15.2)	23 (13.7)	
Country of origin				0.63

Spain	4035 (72.3)	181 (76.4)	122 (72.6)	
No Spain	1535 (27.5)	56 (23.6)	46 (27.4)	
Unknown	11 (0.2)	0	0	
CD4+ cell count [n (%)]				
Median [cells/ $\square$ 1 (IQR)]	297 (183 – 416)	248 (98 – 361)	175 (80 – 306)	<0.001
<200	1484 (26.6)	92 (38.8)	87 (51.8)	<0.001
200-499	3111 (55.7)	122 (51.5)	60 (35.7)	
$\geq$ 500	773 (13.8)	16 (6.7)	14 (8.3)	
Unknown	213 (3.8)	7 (2.9)	7 (4.2)	
HIV-1 viral load [n (%)]				
<100000	3491 (62.5)	94 (39.7)	71 (42.3)	<0.001
$\geq$ 100000	1857 (33.3)	137 (57.8)	92 (54.8)	
Unknown	233 (4.2)	6 (2.5)	5 (3.0)	
AIDS diagnosis [n (%)]				
No	4891 (87.6)	188 (79.3)	130 (77.4)	<0.001
Yes	690 (12.4)	49 (20.7)	38 (22.6)	
Hepatitis C virus antibodies [n (%)]				
No	2609 (46.7)	117 (49.4)	72 (42.9)	0.001
Yes	562 (10.1)	31 (13.1)	32 (19.0)	
Unknown	2410 (43.2)	89 (37.5)	64 (38.1)	
Hepatitis B surface antigen [n (%)]				
No	2535 (45.4)	123 (51.9)	88 (52.4)	0.09
Yes	131 (2.4)	7 (2.9)	5 (3.0)	
Unknown	2915 (52.2)	107 (45.1)	75 (44.6)	
ART regimen [n (%)]				
2 NRTI + 1 NNRTI	3200 (57.3)	117 (49.4)	63 (37.5)	<0.001
2 NRTI + 1 PI/r	1542 (27.6)	100 (42.2)	82 (48.8)	
2 NRTI + 1 II	551 (9.9)	7 (2.9)	6 (3.6)	
Other	206 (3.7)	10 (4.2)	14 (8.3)	
Non-specified	82 (1.5)	3 (1.3)	3 (1.8)	
Year of ART initiation [n (%)]				
2004 – 2007	1087 (19.5)	86 (36.3)	80 (47.6)	<0.001
2008 – 2011	2344 (42.0)	116 (48.9)	75 (44.6)	
2012 – 2015	2150 (38.5)	35 (14.8)	13 (7.7)	

LLV: Low-level viremia; LLV50-199: Low-level viremia between 50 and 199 copies/ml; LLV200-499: Low level viremia between 200 and 499 copies/ml; ART: Antiretroviral therapy; NRTI: Nucleoside reverse transcriptase inhibitors NNRTI: Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors; PI/r: Ritonavir booster-Protease inhibitor; II: Integrase inhibitor

Table 2. Multivariable Relative Risk Ratios (RRRs) for sociodemographic and clinical factors associated with LLV50-199 and LLV200-499 in comparison to no LLV

	LLV50-199		LLV200-499	
	RRR (95% CI)	p-value	RRR (95% CI)	p-value
Sex		<0.001		0.48
Male	1.00		1.00	
Female	0.60 (0.46 – 0.77)		1.10 (0.84 – 1.45)	
CD4+ cell count		0.64		<0.001
<200	1.00		1.00	
$\geq$ 200	0.93 (0.68 – 1.26)		0.54 (0.35 – 0.82)	
Unknown	1.57 (0.45 – 5.42)		2.18 (0.89 – 5.32)	
HIV-1 viral load		<0.001		<0.001
<100000	1.00		1.00	
$\geq$ 100000	2.43 (1.88 – 3.15)		1.96 (1.37 – 2.80)	
Unknown	0.64 (0.25 – 1.62)		0.36 (0.13 – 0.98)	
Hepatitis C virus antibodies		0.80		0.053
No	1.00		1.00	

Yes	1.11 (0.74 – 1.68)		1.61 (1.08 – 2.40)	
Unknown	0.98 (0.62 – 1.56)		1.30 (0.80 – 2.11)	
ART regimen [n (%)]		<0.001		<0.001
2 NRTI + 1 NNRTI	1.00		1.00	
2 NRTI + 1 PI/r	1.65 (1.28 – 2.12)		2.22 (1.54 – 3.20)	
2 NRTI + 1 II	0.54 (0.29 – 1.01)		1.22 (0.45 – 3.28)	
Other/Non-specified	1.15 (0.58 – 2.28)		2.70 (1.35 – 5.42)	
Year of ART initiation [n (%)]		<0.001		<0.001
2004 – 2007	1.00		1.00	
2008 – 2011	0.72 (0.53 – 0.99)		0.56 (0.36 – 0.87)	
2012 – 2015	0.26 (0.13 – 0.49)		0.12 (0.04 – 0.35)	

LLV: Low-level viremia; LLV50-199: Low-level viremia between 50 and 199 copies/ml; LLV200-499: Low level viremia between 200 and 499 copies/ml; ART: Antiretroviral therapy; NRTI: Nucleoside reverse transcriptase inhibitors NNRTI: Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors; PI/r: Ritonavir booster-Protease inhibitor; II: Integrase inhibitor

Table 3. Crude and adjusted hazard ratios for AIDS event/death, virological failure and occurrence of non-AIDS event

	Number events	Follow-up (persons-year)	Rate (95% CI) (per 100 persons-year)	Crude HR (95% CI)	p-value	Adjusted HR (95% CI) <sup>1</sup>	p-value
AIDS event/death							
LLV					<0.001		0.01
No LLV	154	18235	0.8 (0.7 – 1.0)	1.00		1.00	
LLV50-200	8	567	1.4 (0.7 – 2.8)	1.84 (0.89 – 3.82)		1.44 (0.69 – 3.03)	
LLV200-499	9	315	2.9 (1.5 – 5.5)	3.65 (1.81 – 7.38)		2.89 (1.41 – 5.92)	
Virological failure							
LLV					<0.001		<0.001
No LLV	256	17757	1.4 (1.3 – 1.6)	1.00		1.00	
LLV50-200	12	528	2.3 (1.3 – 4.0)	1.65 (0.92 – 2.98)		1.42 (0.78 – 2.58)	
LLV200-499	12	270	4.5 (2.5 – 7.8)	3.27 (1.80 – 5.93)		3.25 (1.77 – 5.99)	
Any serious NAE							
LLV					0.94		0.81
No LLV	233	16746	1.4 (1.2 – 1.6)	1.00		1.00	
LLV50-200	7	524	1.3 (0.6 – 2.8)	1.00 (0.47 – 2.15)		0.81 (0.37 – 1.75)	
LLV200-499	5	307	1.6 (0.7 – 3.9)	1.17 (0.47 – 2.87)		0.83 (0.34 – 2.07)	

<sup>1</sup> Adjusted for sex (male, female), age (<50, ≥50), transmission group (homo/bisexual, injecting drug use, heterosexual, other/unknown), educational level (no or compulsory education, upper secondary or university, unknown), country of origin (Spain, no Spain, Unknown), CD4+ cell count (<200, ≥200, unknown), HIV-1 viral load (<100000, ≥100000, unknown), AIDS diagnosis (no, yes), hepatitis C virus antibodies (no, yes, unknown) and hepatitis B surface antigen (no, yes, unknown) at ART initiation, ART regimen (2 NRTI + 1 NNRTI, 2 NRTI + 1 PI, 2 NRTI + 1 II, other/non-specified) and year of ART initiation (2004-2007, 2008-2011, 2012-2015).

LLV: Low-level viremia; LLV50-199: Low-level viremia between 50 and 199 copies/ml; LLV200-499: Low level viremia between 200 and 499 copies/ml; ART: Antiretroviral therapy; NRTI: Nucleoside reverse transcriptase inhibitors NNRTI: Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors; PI/r: Ritonavir booster-Protease inhibitor; II: Integrase inhibitor

## Acknowledgements

This study would not have been possible without the collaboration of all patients, medical and nursery staff and data managers who have taken part in the Project.

## References

1. Thiébaud R, Morlat P, Jacqmin-Gadda H, et al. Clinical progression of HIV-1 infection according to the viral response during the first year of antiretroviral treatment. Groupe d'Epidémiologie du SIDA en Aquitaine (GECSA). *AIDS Lond Engl*. 2000;14(8):971-978.
2. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*. 1998;338(13):853-860.
3. EACS society guidelines 2017. [http://www.eacsociety.org/files/guidelines\\_8.2-english.pdf](http://www.eacsociety.org/files/guidelines_8.2-english.pdf).
4. DHHS guidelines 2017 <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>.
5. Gesida guidelines 2017. <http://gesida-seimc.org/wp-content/uploads/2017/02/gesida-guiasclinicas-2017-TAR.pdf>. Accessed June 25, 2017.
6. Cohen C. Low-level viremia in HIV-1 infection: consequences and implications for switching to a new regimen. *HIV Clin Trials*. 2009;10(2):116-124.
7. Greub G, Cozzi-Lepri A, Ledergerber B, et al. Intermittent and sustained low-level HIV viral rebound in patients receiving potent antiretroviral therapy. *AIDS Lond Engl*. 2002;16(14):1967-1969.
8. Taiwo B, Gallien S, Aga E, et al. Antiretroviral drug resistance in HIV-1-infected patients experiencing persistent low-level viremia during first-line therapy. *J Infect Dis*. 2011;204(4):515-520.
9. García-Gascó P, Maida I, Blanco F, et al. Episodes of low-level viral rebound in HIV-infected patients on antiretroviral therapy: frequency, predictors and outcome. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61(3):699-704.
10. Havlir DV, Bassett R, Levitan D, et al. Prevalence and predictive value of intermittent viremia with combination hiv therapy. *JAMA*. 2001;286(2):171-179.
11. Karlsson AC, Younger SR, Martin JN, et al. Immunologic and virologic evolution during periods of intermittent and persistent low-level viremia. *AIDS Lond Engl*. 2004;18(7):981-989.
12. Geretti AM, Smith C, Haberl A, et al. Determinants of virological failure after successful viral load suppression in first-line highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther*. 2008;13(7):927-936.

13. Sungkanuparph S, Groger RK, Overton ET, Fraser VJ, Powderly WG. Persistent low-level viraemia and virological failure in HIV-1-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. *HIV Med.* 2006;7(7):437-441.
14. Laprise C, de Pokomandy A, Baril J-G, Dufresne S, Trottier H. Virologic failure following persistent low-level viremia in a cohort of HIV-positive patients: results from 12 years of observation. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2013;57(10):1489-1496.
15. Delaugerre C, Gallien S, Flandre P, et al. Impact of low-level-viremia on HIV-1 drug-resistance evolution among antiretroviral treated-patients. *PloS One.* 2012;7(5):e36673.
16. Swenson LC, Min JE, Woods CK, et al. HIV drug resistance detected during low-level viraemia is associated with subsequent virologic failure. *AIDS Lond Engl.* 2014;28(8):1125-1134.
17. Gonzalez-Serna A, Min JE, Woods C, et al. Performance of HIV-1 drug resistance testing at low-level viremia and its ability to predict future virologic outcomes and viral evolution in treatment-naïve individuals. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2014;58(8):1165-1173.
18. Corbeau P, Reynes J. Immune reconstitution under antiretroviral therapy: the new challenge in HIV-1 infection. *Blood.* 2011;117(21):5582-5590.
19. Caro-Murillo AM, Castilla J, Pérez-Hoyos S, et al. [Spanish cohort of naïve HIV-infected patients (CoRIS): rationale, organization and initial results]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25(1):23-31.
20. Masiá M, Padilla S, Álvarez D, et al. Risk, predictors, and mortality associated with non-AIDS events in newly diagnosed HIV-infected patients: role of antiretroviral therapy. *AIDS Lond Engl.* 2013;27(2):181-189.
21. Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration (ART-CC), Vandenhende M-A, Ingle S, et al. Impact of low-level viremia on clinical and virological outcomes in treated HIV-1-infected patients. *AIDS Lond Engl.* 2015;29(3):373-383.
22. Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, Lundgren JD, Babiker A, et al. Inferior clinical outcome of the CD4+ cell count-guided antiretroviral treatment interruption strategy in the SMART study: role of CD4+ Cell counts and HIV RNA levels during follow-up. *J Infect Dis.* 2008;197(8):1145-1155. doi:10.1086/529523.
23. Tarwater PM, Gallant JE, Mellors JW, et al. Prognostic value of plasma HIV RNA among highly active antiretroviral therapy users. *AIDS Lond Engl.* 2004;18(18):2419-2423.

24. SMART Study Group, El-Sadr WM, Grund B, et al. Risk for opportunistic disease and death after reinitiating continuous antiretroviral therapy in patients with HIV previously receiving episodic therapy: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2008;149(5):289-299.
25. Kuller LH, Tracy R, Belloso W, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* 2008;5(10):e203.
26. Bastard J-P, Soulié C, Fellahi S, et al. Circulating interleukin-6 levels correlate with residual HIV viraemia and markers of immune dysfunction in treatment-controlled HIV-infected patients. *Antivir Ther.* 2012;17(5):915-919.
27. Hunt PW. HIV and inflammation: mechanisms and consequences. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2012;9(2):139-147.
28. Hsue PY, Deeks SG, Hunt PW. Immunologic basis of cardiovascular disease in HIV-infected adults. *J Infect Dis.* 2012;205 Suppl 3:S375-382.
29. Zhang S, van Sighem A, Kesselring A, et al. Episodes of HIV viremia and the risk of non-AIDS diseases in patients on suppressive antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 2012;60(3):265-272.
30. Mugavero MJ, Napravnik S, Cole SR, et al. Viremia copy-years predicts mortality among treatment-naïve HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2011;53(9):927-935.
31. Gallien S, Delaugerre C, Charreau I, et al. Emerging integrase inhibitor resistance mutations in raltegravir-treated HIV-1-infected patients with low-level viremia. *AIDS Lond Engl.* 2011;25(5):665-669.
32. Li JZ, Gallien S, Do TD, et al. Prevalence and significance of HIV-1 drug resistance mutations among patients on antiretroviral therapy with detectable low-level viremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(11):5998-6000.

# **BIBLIOGRAFÍA**



## BIBLIOGRAFÍA

1. Gallo RC, Montagnier L. The discovery of HIV as the cause of AIDS. *N Engl J Med.* 11 de diciembre de 2003;349(24):2283-5.
2. Centers for Disease Control (CDC). Pneumocystis pneumonia--Los Angeles. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 5 de junio de 1981;30(21):250-2.
3. Centers for Disease Control (CDC). Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men--New York City and California. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 3 de julio de 1981;30(25):305-8.
4. Haverkos HW, Curran JW. The current outbreak of Kaposi's sarcoma and opportunistic infections. *CA Cancer J Clin.* diciembre de 1982;32(6):330-9.
5. Centers for Disease Control (CDC). Update on acquired immune deficiency syndrome (AIDS)--United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 24 de septiembre de 1982;31(37):507-8, 513-4.
6. Centers for Disease Control (CDC). Possible transfusion-associated acquired immune deficiency syndrome (AIDS) - California. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 10 de diciembre de 1982;31(48):652-4.
7. Centers for Disease Control (CDC). Unexplained immunodeficiency and opportunistic infections in infants--New York, New Jersey, California. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 17 de diciembre de 1982;31(49):665-7.
8. Coffin J, Haase A, Levy JA, Montagnier L, Oroszlan S, Teich N, et al. Human immunodeficiency viruses. *Science.* 9 de mayo de 1986;232(4751):697.
9. Clavel F, Guyader M, Guétard D, Sallé M, Montagnier L, Alizon M. Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. *Nature.* 18 de diciembre de 1986;324(6098):691-5.
10. Fischl MA, Richman DD, Grieco MH, Gottlieb MS, Volberding PA, Laskin OL, et al. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med.* 23 de julio de 1987;317(4):185-91.
11. Delta: a randomised double-blind controlled trial comparing combinations of zidovudine plus didanosine or zalcitabine with zidovudine alone in HIV-infected

- individuals. Delta Coordinating Committee. *Lancet Lond Engl.* 3 de agosto de 1996;348(9023):283-91.
12. Hammer SM, Katzenstein DA, Hughes MD, Gundacker H, Schooley RT, Haubrich RH, et al. A trial comparing nucleoside monotherapy with combination therapy in HIV-infected adults with CD4 cell counts from 200 to 500 per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Study Team. *N Engl J Med.* 10 de octubre de 1996;335(15):1081-90.
  13. Mocroft A, Ledergerber B, Katlama C, Kirk O, Reiss P, d'Arminio Monforte A, et al. Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *Lancet Lond Engl.* 5 de julio de 2003;362(9377):22-9.
  14. Argos L. Vancouver marca el final del pesimismo en la lucha contra el sida, gracias a los fármacos. *El País [Internet].* 13 de julio de 1996 [citado 1 de octubre de 2019]; Disponible en: [https://elpais.com/diario/1996/07/13/sociedad/837208814\\_850215.html](https://elpais.com/diario/1996/07/13/sociedad/837208814_850215.html)
  15. Skoog MT, Hargrave KD, Miglietta JJ, Kopp EB, Merluzzi VJ. Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and virus replication by a non-nucleoside dipyridodiazepinone BI-RG-587 (Nevirapine). *Med Res Rev.* enero de 1992;12(1):27-40.
  16. Kilby JM, Lalezari JP, Eron JJ, Carlson M, Cohen C, Arduino RC, et al. The safety, plasma pharmacokinetics, and antiviral activity of subcutaneous enfuvirtide (T-20), a peptide inhibitor of gp41-mediated virus fusion, in HIV-infected adults. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1 de julio de 2002;18(10):685-93.
  17. Hicks C, Gulick RM. Raltegravir: the first HIV type 1 integrase inhibitor. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 de abril de 2009;48(7):931-9.
  18. van Lelyveld SFL, Wensing AMJ, Hoepelman AIM. The MOTIVATE trials: maraviroc therapy in antiretroviral treatment-experienced HIV-1-infected patients. *Expert Rev Anti Infect Ther.* noviembre de 2012;10(11):1241-7.
  19. van Sighem AI, Gras LAJ, Reiss P, Brinkman K, de Wolf F, ATHENA national observational cohort study. Life expectancy of recently diagnosed asymptomatic HIV-infected patients approaches that of uninfected individuals. *AIDS Lond Engl.* 19 de junio de 2010;24(10):1527-35.
  20. Barouch DH, Deeks SG. Immunologic strategies for HIV-1 remission and eradication. *Science.* 11 de julio de 2014;345(6193):169-74.

21. Gutiérrez F. HIV/AIDS infection: The beginning of the end for today's greatest pandemic? *Rev Clin Esp.* noviembre de 2017;217(8):468-72.
22. Chiu IM, Yaniv A, Dahlberg JE, Gazit A, Skuntz SF, Tronick SR, et al. Nucleotide sequence evidence for relationship of AIDS retrovirus to lentiviruses. *Nature.* 26 de octubre de 1985;317(6035):366-8.
23. Ward AB, Wilson IA. Insights into the trimeric HIV-1 envelope glycoprotein structure. *Trends Biochem Sci.* febrero de 2015;40(2):101-7.
24. Becerra JC, Bildstein LS, Gach JS. Recent Insights into the HIV/AIDS Pandemic. *Microb Cell Graz Austria.* 5 de septiembre de 2016;3(9):451-75.
25. Cimarelli A, Darlix JL. Assembling the human immunodeficiency virus type 1. *Cell Mol Life Sci CMLS.* julio de 2002;59(7):1166-84.
26. Freed EO. HIV-1 replication. *Somat Cell Mol Genet.* noviembre de 2001;26(1-6):13-33.
27. Jablonski JA, Amelio AL, Giacca M, Caputi M. The transcriptional transactivator Tat selectively regulates viral splicing. *Nucleic Acids Res.* marzo de 2010;38(4):1249-60.
28. Cimarelli A, Darlix J-L. HIV-1 reverse transcription. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2014;1087:55-70.
29. Chamanian M, Purzycka KJ, Wille PT, Ha JS, McDonald D, Gao Y, et al. A cis-acting element in retroviral genomic RNA links Gag-Pol ribosomal frameshifting to selective viral RNA encapsidation. *Cell Host Microbe.* 13 de febrero de 2013;13(2):181-92.
30. Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanita.* 2010;46(1):5-14.
31. Hansasuta P, Rowland-Jones SL. HIV-1 transmission and acute HIV-1 infection. *Br Med Bull.* 2001;58:109-27.
32. Page-Shafer K, Sweet S, Kassaye S, Ssali C. (C2) Saliva, breast milk, and mucosal fluids in HIV transmission. *Adv Dent Res.* 1 de abril de 2006;19(1):152-7.
33. Baggaley RF, White RG, Boily M-C. HIV transmission risk through anal intercourse: systematic review, meta-analysis and implications for HIV prevention. *Int J Epidemiol.* agosto de 2010;39(4):1048-63.
34. Shattock RJ, Haynes BF, Pulendran B, Flores J, Esparza J, Working Group convened by the Global HIV Vaccine Enterprise. Improving defences at the portal of HIV entry:

- mucosal and innate immunity. *PLoS Med.* 1 de abril de 2008;5(4):e81.
35. Doisne J-M, Urrutia A, Lacabaratz-Porret C, Goujard C, Meyer L, Chaix M-L, et al. CD8+ T cells specific for EBV, cytomegalovirus, and influenza virus are activated during primary HIV infection. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 de agosto de 2004;173(4):2410-8.
  36. Pace BT, Lackner AA, Porter E, Pahar B. The Role of Defensins in HIV Pathogenesis. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:5186904.
  37. Tomalka J, Ghneim K, Bhattacharyya S, Aid M, Barouch DH, Sekaly RP, et al. The sooner the better: innate immunity as a path toward the HIV cure. *Curr Opin Virol.* agosto de 2016;19:85-91.
  38. Aggarwal A, McAllery S, Turville SG. Revising the Role of Myeloid cells in HIV Pathogenesis. *Curr HIV/AIDS Rep.* marzo de 2013;10(1):3-11.
  39. Appay V, Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *J Pathol.* enero de 2008;214(2):231-41.
  40. Coffin J, Swanstrom R. HIV pathogenesis: dynamics and genetics of viral populations and infected cells. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 1 de enero de 2013;3(1):a012526.
  41. Mavilio D, Benjamin J, Daucher M, Lombardo G, Kottlil S, Planta MA, et al. Natural killer cells in HIV-1 infection: dichotomous effects of viremia on inhibitory and activating receptors and their functional correlates. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 9 de diciembre de 2003;100(25):15011-6.
  42. Global HIV & AIDS statistics — 2019 fact sheet [Internet]. [citado 16 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
  43. Thiébaud R, Morlat P, Jacqmin-Gadda H, Neau D, Mercié P, Dabis F, et al. Clinical progression of HIV-1 infection according to the viral response during the first year of antiretroviral treatment. *Groupe d'Epidémiologie du SIDA en Aquitaine (GECSA).* *AIDS Lond Engl.* 26 de mayo de 2000;14(8):971-8.
  44. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV [Internet]. [citado 18 de enero de 2018]. Disponible en: <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>
  45. Documento de consenso de GeSIDA/Plan Nacional sobre el SIDA respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia

humana (actualización enero 2019) [Internet]. [citado 28 de agosto de 2019]. Disponible en: [http://gesida-seimc.org/wp-content/uploads/2019/02/Guia\\_Tar\\_Gesida\\_Ene\\_2019.pdf](http://gesida-seimc.org/wp-content/uploads/2019/02/Guia_Tar_Gesida_Ene_2019.pdf)

46. INSIGHT START Study Group, Lundgren JD, Babiker AG, Gordin F, Emery S, Grund B, et al. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N Engl J Med*. 27 de agosto de 2015;373(9):795-807.
47. TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, Danel C, Moh R, Gabillard D, Badje A, Le Carrou J, et al. A Trial of Early Antiretrovirals and Isoniazid Preventive Therapy in Africa. *N Engl J Med*. 27 de agosto de 2015;373(9):808-22.
48. Kitahata MM, Gange SJ, Abraham AG, Merriman B, Saag MS, Justice AC, et al. Effect of early versus deferred antiretroviral therapy for HIV on survival. *N Engl J Med*. 30 de abril de 2009;360(18):1815-26.
49. When To Start Consortium, Sterne JAC, May M, Costagliola D, de Wolf F, Phillips AN, et al. Timing of initiation of antiretroviral therapy in AIDS-free HIV-1-infected patients: a collaborative analysis of 18 HIV cohort studies. *Lancet Lond Engl*. 18 de abril de 2009;373(9672):1352-63.
50. Writing Committee for the CASCADE Collaboration. Timing of HAART initiation and clinical outcomes in human immunodeficiency virus type 1 seroconverters. *Arch Intern Med*. 26 de septiembre de 2011;171(17):1560-9.
51. HIV-CAUSAL Collaboration, Cain LE, Logan R, Robins JM, Sterne JAC, Sabin C, et al. When to initiate combined antiretroviral therapy to reduce mortality and AIDS-defining illness in HIV-infected persons in developed countries: an observational study. *Ann Intern Med*. 19 de abril de 2011;154(8):509-15.
52. Lodi S, Phillips A, Logan R, Olson A, Costagliola D, Abgrall S, et al. Comparative effectiveness of immediate antiretroviral therapy versus CD4-based initiation in HIV-positive individuals in high-income countries: observational cohort study. *Lancet HIV*. agosto de 2015;2(8):e335-343.
53. Schuurman R, Descamps D, Weverling GJ, Kaye S, Tijnagel J, Williams I, et al. Multicenter comparison of three commercial methods for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma. *J Clin Microbiol*. diciembre de 1996;34(12):3016-22.
54. Ruelle J, Debaisieux L, Vancutsem E, De Bel A, Delforge M-L, Piérard D, et al. HIV-

- 1 low-level viraemia assessed with 3 commercial real-time PCR assays show high variability. *BMC Infect Dis.* 24 de abril de 2012;12:100.
55. FDA Advisor Committee Recommends Approval for Roche's Amplicor HIV Monitor Test. The first standardized PCR test to measure HIV levels in blood. [Internet]. AEGIS Security & Investigations. [citado 31 de enero de 2018]. Disponible en: <http://www.aegis.com/news/pr/1996/PR960326.html>
  56. Zanchetta N, Nardi G, Tocalli L, Drago L, Bossi C, Pulvirenti FR, et al. Evaluation of the abbot LCx HIV-1 RNA quantitative, a new assay for quantitative determination of human immunodeficiency virus type 1 RNA. *J Clin Microbiol.* octubre de 2000;38(10):3882-6.
  57. Kievits T, van Gemen B, van Strijp D, Schukkink R, Dircks M, Adriaanse H, et al. NASBA isothermal enzymatic in vitro nucleic acid amplification optimized for the diagnosis of HIV-1 infection. *J Virol Methods.* diciembre de 1991;35(3):273-86.
  58. Urdea MS, Wilber JC, Yeghiazarian T, Todd JA, Kern DG, Fong SJ, et al. Direct and quantitative detection of HIV-1 RNA in human plasma with a branched DNA signal amplification assay. *AIDS Lond Engl.* noviembre de 1993;7 Suppl 2:S11-14.
  59. Aguilera A, Alba JMG, Lamas LM, Suárez MLM, Galán JC. [A review on new commercial methods for HIV-1 and HCV viral load determinations]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* enero de 2010;28 Suppl 1:62-7.
  60. Research C for BE and. Premarket Approvals (PMAs) - COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 Test, 48 Tests; COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan Wash Reagent, 5.1 L [Internet]. [citado 31 de enero de 2018]. Disponible en: <https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/PremarketApprovalsPMAs/ucm091618.htm>
  61. Research C for BE and. Premarket Approvals (PMAs) - Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit, Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit, Abbott RealTime HIV-1 Control Kit [Internet]. [citado 31 de enero de 2018]. Disponible en: <https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/PremarketApprovalsPMAs/ucm089797.htm>
  62. Mourez T, Delaugerre C, Vray M, Lemée V, Simon F, Plantier J-C. Comparison of the bioMérieux NucliSENS EasyQ HIV-1 v2.0-HIV-1 RNA quantification assay versus Abbott RealTime HIV-1 and Roche Cobas TaqMan HIV-1 v2.0 on current epidemic

- HIV-1 variants. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. octubre de 2015;71:76-81.
63. Katsoulidou A, Petrodaskalaki M, Sypsa V, Papachristou E, Anastassopoulou CG, Gargalianos P, et al. Evaluation of the clinical sensitivity for the quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: Comparison of the new COBAS TaqMan HIV-1 with three current HIV-RNA assays--LCx HIV RNA quantitative, VERSANT HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) and COBAS AMPLICOR HIV-1 Monitor v1.5. *J Virol Methods*. febrero de 2006;131(2):168-74.
  64. Braun P, Delgado R, Drago M, Fanti D, Fleury H, Hofmann J, et al. A European multicentre study on the comparison of HIV-1 viral loads between VERIS HIV-1 Assay and Roche COBAS® TAQMAN® HIV-1 test, Abbott RealTime HIV-1 Assay, and Siemens VERSANT HIV-1 Assay. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. julio de 2017;92:75-82.
  65. Sire J-M, Vray M, Merzouk M, Plantier J-C, Pavie J, Maylin S, et al. Comparative RNA quantification of HIV-1 group M and non-M with the Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 v2.0 and Abbott Real-Time HIV-1 PCR assays. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de marzo de 2011;56(3):239-43.
  66. Karasi JC, Dziezuk F, Quennery L, Förster S, Reischl U, Colucci G, et al. High correlation between the Roche COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, v2.0 and the Abbott m2000 RealTime HIV-1 assays for quantification of viral load in HIV-1 B and non-B subtypes. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. noviembre de 2011;52(3):181-6.
  67. Vancoillie L, Demecheleer E, Callens S, Vogelaers D, Vandekerckhove L, Mortier V, et al. Markers associated with persisting low-level viraemia under antiretroviral therapy in HIV-1 infection. *J Antimicrob Chemother*. abril de 2014;69(4):1098-103.
  68. García-Gascó P, Maida I, Blanco F, Barreiro P, Martín-Carbonero L, Vispo E, et al. Episodes of low-level viral rebound in HIV-infected patients on antiretroviral therapy: frequency, predictors and outcome. *J Antimicrob Chemother*. marzo de 2008;61(3):699-704.
  69. Moore AL, Youle M, Lipman M, Cozzi-Lepri A, Lampe F, Madge S, et al. Raised viral load in patients with viral suppression on highly active antiretroviral therapy: transient increase or treatment failure? *AIDS Lond Engl*. 8 de marzo de 2002;16(4):615-8.

70. Havlir DV, Bassett R, Levitan D, Gilbert P, Tebas P, Collier AC, et al. Prevalence and predictive value of intermittent viremia with combination hiv therapy. *JAMA*. 11 de julio de 2001;286(2):171-9.
71. Mocroft A, Ruiz L, Reiss P, Ledergerber B, Katlama C, Lazzarin A, et al. Virological rebound after suppression on highly active antiretroviral therapy. *AIDS Lond Engl*. 15 de agosto de 2003;17(12):1741-51.
72. Phillips AN, Miller V, Sabin C, Cozzi Lepri A, Klauke S, Bickel M, et al. Durability of HIV-1 viral suppression over 3.3 years with multi-drug antiretroviral therapy in previously drug-naive individuals. *AIDS Lond Engl*. 7 de diciembre de 2001;15(18):2379-84.
73. Sax PE. Evaluation and management of early virological failure. *Curr Opin HIV AIDS*. septiembre de 2006;1(5):409-16.
74. European Guidelines for the treatment of HIV-positive adults in Europe [Internet]. [citado 17 de noviembre de 2019]. Disponible en: [https://www.eacsociety.org/files/2019\\_guidelines-10.0\\_final.pdf](https://www.eacsociety.org/files/2019_guidelines-10.0_final.pdf)
75. Churchill D, Waters L, Ahmed N, Angus B, Boffito M, Bower M, et al. British HIV Association guidelines for the treatment of HIV-1-positive adults with antiretroviral therapy 2015. *HIV Med*. agosto de 2016;17 Suppl 4:s2-104.
76. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Recommendations for a Public Health Approach. Second edition (2016) [Internet]. [citado 19 de enero de 2018]. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/208825/1/9789241549684\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/208825/1/9789241549684_eng.pdf?ua=1)
77. Delaugerre C, Ghosn J, Lacombe J-M, Pialoux G, Cuzin L, Launay O, et al. Significant reduction in HIV virologic failure during a 15-year period in a setting with free healthcare access. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 de febrero de 2015;60(3):463-72.
78. Deeks SG, Gange SJ, Kitahata MM, Saag MS, Justice AC, Hogg RS, et al. Trends in multidrug treatment failure and subsequent mortality among antiretroviral therapy-experienced patients with HIV infection in North America. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 de noviembre de 2009;49(10):1582-90.
79. Cescon A, Kanters S, Brumme CJ, Lepik KJ, Forrest JI, Hull M, et al. Trends in plasma

- HIV-RNA suppression and antiretroviral resistance in British Columbia, 1997-2010. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de enero de 2014;65(1):107-14.
80. Ledergerber B CM. Trends over time of virological and immunological characteristics in the Swiss HIV Cohort Study. *HIV Med.* 2011;12(5).
81. Bansi L, Sabin C, Delpech V, Hill T, Fisher M, Walsh J, et al. Trends over calendar time in antiretroviral treatment success and failure in HIV clinic populations. *HIV Med.* agosto de 2010;11(7):432-8.
82. Lampe FC, Gatell JM, Staszewski S, Johnson MA, Pradier C, Gill MJ, et al. Changes over time in risk of initial virological failure of combination antiretroviral therapy: a multicohort analysis, 1996 to 2002. *Arch Intern Med.* 13 de marzo de 2006;166(5):521-8.
83. Hermans LE, Moorhouse M, Carmona S, Grobbee DE, Hofstra LM, Richman DD, et al. Effect of HIV-1 low-level viraemia during antiretroviral therapy on treatment outcomes in WHO-guided South African treatment programmes: a multicentre cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(2):188-97.
84. Wood E, Hogg RS, Yip B, Harrigan PR, O'Shaughnessy MV, Montaner JSG. Effect of medication adherence on survival of HIV-infected adults who start highly active antiretroviral therapy when the CD4+ cell count is 0.200 to 0.350 x 10<sup>9</sup> cells/L. *Ann Intern Med.* 18 de noviembre de 2003;139(10):810-6.
85. Geretti AM, Smith C, Haberl A, Garcia-Diaz A, Nebbia G, Johnson M, et al. Determinants of virological failure after successful viral load suppression in first-line highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther.* 2008;13(7):927-36.
86. Ten Years of HAART: Foundation for the Future [Internet]. Medscape. [citado 18 de enero de 2018]. Disponible en: <http://www.medscape.org/viewarticle/523119>
87. Paredes R, Lalama CM, Ribaud HJ, Schackman BR, Shikuma C, Giguel F, et al. Pre-existing minority drug-resistant HIV-1 variants, adherence, and risk of antiretroviral treatment failure. *J Infect Dis.* marzo de 2010;201(5):662-71.
88. Phillips AN, Pradier C, Lazzarin A, Clotet B, Goebel FD, Hermans P, et al. Viral load outcome of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor regimens for 2203 mainly antiretroviral-experienced patients. *AIDS Lond Engl.* 7 de diciembre de 2001;15(18):2385-95.

89. Borroto-Esoda K, Waters JM, Bae AS, Harris JL, Hinkle JE, Quinn JB, et al. Baseline genotype as a predictor of virological failure to emtricitabine or stavudine in combination with didanosine and efavirenz. *AIDS Res Hum Retroviruses*. agosto de 2007;23(8):988-95.
90. Powderly WG, Saag MS, Chapman S, Yu G, Quart B, Clendeninn NJ. Predictors of optimal virological response to potent antiretroviral therapy. *AIDS Lond Engl*. 1 de octubre de 1999;13(14):1873-80.
91. van Leth F, Andrews S, Grinsztejn B, Wilkins E, Lazanas MK, Lange JMA, et al. The effect of baseline CD4 cell count and HIV-1 viral load on the efficacy and safety of nevirapine or efavirenz-based first-line HAART. *AIDS Lond Engl*. 25 de marzo de 2005;19(5):463-71.
92. Oliveira L da S, Caixeta LM, Martins JLR, Segati KD, Moura RS, Daher MC, et al. Adherence to antiretroviral therapy and correlation with adverse effects and coinfections in people living with HIV/AIDS in the municipality of Goiás State. *Rev Soc Bras Med Trop*. agosto de 2018;51(4):436-44.
93. Bezabih YM, Beyene F, Bezabhe WM. Factors associated with first-line antiretroviral treatment failure in adult HIV-positive patients: a case-control study from Ethiopia. *BMC Infect Dis*. 18 de junio de 2019;19(1):537.
94. Bogner JR, Lutz B, Klein HG, Pollerer C, Troendle U, Goebel FD. Association of highly active antiretroviral therapy failure with chemokine receptor 5 wild type. *HIV Med*. julio de 2004;5(4):264-72.
95. Brennan AT, Maskew M, Sanne I, Fox MP. The interplay between CD4 cell count, viral load suppression and duration of antiretroviral therapy on mortality in a resource-limited setting. *Trop Med Int Health TM IH*. mayo de 2013;18(5):619-31.
96. Lohse N, Kronborg G, Gerstoft J, Larsen CS, Pedersen G, Pedersen C, et al. Virological control during the first 6-18 months after initiating highly active antiretroviral therapy as a predictor for outcome in HIV-infected patients: a Danish, population-based, 6-year follow-up study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 de enero de 2006;42(1):136-44.
97. Luz PM, Bruyand M, Ribeiro S, Bonnet F, Moreira RI, Hessamfar M, et al. AIDS and non-AIDS severe morbidity associated with hospitalizations among HIV-infected patients in two regions with universal access to care and antiretroviral therapy, France

- and Brazil, 2000-2008: hospital-based cohort studies. *BMC Infect Dis.* 21 de mayo de 2014;14:278.
98. Siliciano JD, Siliciano RF. Recent trends in HIV-1 drug resistance. *Curr Opin Virol.* octubre de 2013;3(5):487-94.
  99. Dolling D, Nelson M, Schwenk A, Churchill D, Pillay D, Dunn D. Rapid Increase in the Frequency of Wild-type HIV-1 Drug Resistance Reports among ART-experienced Patients in the UK [Internet]. [citado 20 de enero de 2018]. Disponible en:<http://www.hivrd.org.uk/system/files/public/presentations/CROI%202013%20dolling.pdf>
  100. Charpentier C, Lambert-Niclot S, Visseaux B, Morand-Joubert L, Storto A, Larrouy L, et al. Evolution of the K65R, K103N and M184V/I reverse transcriptase mutations in HIV-1-infected patients experiencing virological failure between 2005 and 2010. *J Antimicrob Chemother.* octubre de 2013;68(10):2197-8.
  101. Napravnik S, Edwards D, Stewart P, Stalzer B, Matteson E, Eron JJ. HIV-1 drug resistance evolution among patients on potent combination antiretroviral therapy with detectable viremia. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de septiembre de 2005;40(1):34-40.
  102. Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, Serwadda D, Li C, Wabwire-Mangen F, et al. Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med.* 30 de marzo de 2000;342(13):921-9.
  103. Cohen C. Low-level viremia in HIV-1 infection: consequences and implications for switching to a new regimen. *HIV Clin Trials.* abril de 2009;10(2):116-24.
  104. Greub G, Cozzi-Lepri A, Ledergerber B, Staszewski S, Perrin L, Miller V, et al. Intermittent and sustained low-level HIV viral rebound in patients receiving potent antiretroviral therapy. *AIDS Lond Engl.* 27 de septiembre de 2002;16(14):1967-9.
  105. Taiwo B, Gallien S, Aga E, Ribaud H, Haubrich R, Kuritzkes DR, et al. Antiretroviral drug resistance in HIV-1-infected patients experiencing persistent low-level viremia during first-line therapy. *J Infect Dis.* 15 de agosto de 2011;204(4):515-20.
  106. Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration (ART-CC), Vandenhende M-A, Ingle S, May M, Chene G, Zangerle R, et al. Impact of low-level viremia on clinical and virological outcomes in treated HIV-1-infected patients. *AIDS Lond Engl.* 28 de enero de 2015;29(3):373-83.

107. Elvstam O, Medstrand P, Yilmaz A, Isberg P-E, Gisslén M, Björkman P. Virological failure and all-cause mortality in HIV-positive adults with low-level viremia during antiretroviral treatment. *PloS One*. 2017;12(7):e0180761.
108. Warren AM, Cheng AC, Watson K, Lewin SR, Hoy JF. Outcomes following detection of low level plasma HIV RNA in HIV-infected patients previously virologically suppressed on antiretroviral therapy: a retrospective observational study. *Sex Health*. junio de 2017;14(3):238-43.
109. Martin-Blondel G, Sauné K, Vu Hai V, Marchou B, Delobel P, Izopet J, et al. Factors associated with a strictly undetectable viral load in HIV-1-infected patients. *HIV Med*. octubre de 2012;13(9):568-73.
110. Pascual-Pareja JF, Martínez-Prats L, Luczkowiak J, Fiorante S, Rubio R, Pulido F, et al. Detection of HIV-1 at between 20 and 49 copies per milliliter by the Cobas TaqMan HIV-1 v2.0 assay is associated with higher pretherapy viral load and less time on antiretroviral therapy. *J Clin Microbiol*. mayo de 2010;48(5):1911-2.
111. Charpentier C, Landman R, Laouénan C, Joly V, Hamet G, Damond F, et al. Persistent low-level HIV-1 RNA between 20 and 50 copies/mL in antiretroviral-treated patients: associated factors and virological outcome. *J Antimicrob Chemother*. septiembre de 2012;67(9):2231-5.
112. Boillat-Blanco N, Darling KEA, Schoni-Affolter F, Vuichard D, Rougemont M, Fulchini R, et al. Virological outcome and management of persistent low-level viraemia in HIV-1-infected patients: 11 years of the Swiss HIV Cohort Study. *Antivir Ther*. 2015;20(2):165-75.
113. Konstantopoulos C, Ribaldo H, Ragland K, Bangsberg DR, Li JZ. Antiretroviral regimen and suboptimal medication adherence are associated with low-level human immunodeficiency virus viremia. *Open Forum Infect Dis*. enero de 2015;2(1):ofu119.
114. Navarro J, Caballero E, Curran A, Burgos J, Ocaña I, Falcó V, et al. Impact of low-level viraemia on virological failure in HIV-1-infected patients with stable antiretroviral treatment. *Antivir Ther*. 2016;21(4):345-52.
115. Silva J, Pereira K, Rijo J, Alberto T, Cabanas J, Gomes P, et al. A retrospective observational study of low-level viraemia and its immunological and virological significance: which outcome to expect. *J Int AIDS Soc*. 2014;17(4 Suppl 3):19668.
116. Vandenhende M-A, Perrier A, Bonnet F, Lazaro E, Cazanave C, Reigadas S, et al. Risk

- of virological failure in HIV-1-infected patients experiencing low-level viraemia under active antiretroviral therapy (ANRS C03 cohort study). *Antivir Ther.* 2015;20(6):655-60.
117. Laprise C, de Pokomandy A, Baril J-G, Dufresne S, Trottier H. Virologic failure following persistent low-level viremia in a cohort of HIV-positive patients: results from 12 years of observation. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* noviembre de 2013;57(10):1489-96.
  118. Quiros-Roldan E, Raffetti E, Castelli F, Focà E, Castelnuovo F, Di Pietro M, et al. Low-level viraemia, measured as viraemia copy-years, as a prognostic factor for medium-long-term all-cause mortality: a MASTER cohort study. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(12):3519-27.
  119. Smith CJ, Ryom L, Weber R, Morlat P, Pradier C, Reiss P, et al. Trends in underlying causes of death in people with HIV from 1999 to 2011 (D:A:D): a multicohort collaboration. *Lancet Lond Engl.* 19 de julio de 2014;384(9939):241-8.
  120. Gutiérrez F, García L, Padilla S, Alvarez D, Moreno S, Navarro G, et al. Risk of clinically significant depression in HIV-infected patients: effect of antiretroviral drugs. *HIV Med.* abril de 2014;15(4):213-23.
  121. Masiá M, Padilla S, Álvarez D, López JC, Santos I, Soriano V, et al. Risk, predictors, and mortality associated with non-AIDS events in newly diagnosed HIV-infected patients: role of antiretroviral therapy. *AIDS Lond Engl.* 14 de enero de 2013;27(2):181-9.
  122. Masiá M, Padilla S, Moreno S, Barber X, Iribarren JA, Del Romero J, et al. Prediction of long-term outcomes of HIV-infected patients developing non-AIDS events using a multistate approach. *PloS One.* 2017;12(9):e0184329.
  123. García-Abellán J, Del Río L, García JA, Padilla S, Vivancos MJ, Del Romero J, et al. Risk of cancer in HIV-infected patients in Spain, 2004-2015. The CoRIS cohort study. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 22 de enero de 2019;
  124. Masiá M, Padilla S, García JA, García-Abellán J, Fernández M, Bernardino I, et al. Evolving understanding of cardiovascular, cerebrovascular and peripheral arterial disease in people living with HIV and role of novel biomarkers. A study of the Spanish CoRIS cohort, 2004-2015. *PloS One.* 2019;14(4):e0215507.
  125. Zhang S, van Sighem A, Kesselring A, Gras L, Smit C, Prins JM, et al. Episodes of

- HIV viremia and the risk of non-AIDS diseases in patients on suppressive antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de julio de 2012;60(3):265-72.
126. Swenson LC, Min JE, Woods CK, Cai E, Li JZ, Montaner JSG, et al. HIV drug resistance detected during low-level viraemia is associated with subsequent virologic failure. *AIDS Lond Engl*. 15 de mayo de 2014;28(8):1125-34.
  127. Gonzalez-Serna A, Min JE, Woods C, Chan D, Lima VD, Montaner JSG, et al. Performance of HIV-1 drug resistance testing at low-level viremia and its ability to predict future virologic outcomes and viral evolution in treatment-naive individuals. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. abril de 2014;58(8):1165-73.
  128. Li JZ, Gallien S, Do TD, Martin JN, Deeks S, Kuritzkes DR, et al. Prevalence and significance of HIV-1 drug resistance mutations among patients on antiretroviral therapy with detectable low-level viremia. *Antimicrob Agents Chemother*. noviembre de 2012;56(11):5998-6000.
  129. Delaugerre C, Gallien S, Flandre P, Mathez D, Amarsy R, Ferret S, et al. Impact of low-level-viremia on HIV-1 drug-resistance evolution among antiretroviral treated-patients. *PloS One*. 2012;7(5):e36673.
  130. Gallien S, Delaugerre C, Charreau I, Braun J, Boulet T, Barrail-Tran A, et al. Emerging integrase inhibitor resistance mutations in raltegravir-treated HIV-1-infected patients with low-level viremia. *AIDS Lond Engl*. 13 de marzo de 2011;25(5):665-9.
  131. Mackie NE, Phillips AN, Kaye S, Booth C, Geretti A-M. Antiretroviral drug resistance in HIV-1-infected patients with low-level viremia. *J Infect Dis*. 1 de mayo de 2010;201(9):1303-7.
  132. Santoro MM, Fabeni L, Armenia D, Alteri C, Di Pinto D, Forbici F, et al. Reliability and clinical relevance of the HIV-1 drug resistance test in patients with low viremia levels. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. abril de 2014;58(8):1156-64.
  133. Hunt PW, Deeks SG, Rodriguez B, Valdez H, Shade SB, Abrams DI, et al. Continued CD4 cell count increases in HIV-infected adults experiencing 4 years of viral suppression on antiretroviral therapy. *AIDS Lond Engl*. 5 de septiembre de 2003;17(13):1907-15.
  134. Karlsson AC, Younger SR, Martin JN, Grossman Z, Sinclair E, Hunt PW, et al. Immunologic and virologic evolution during periods of intermittent and persistent

- low-level viremia. *AIDS Lond Engl*. 30 de abril de 2004;18(7):981-9.
135. Zhang S, van Sighem A, Gras L, Reiss P, Smit C, Kroon F, et al. Clinical significance of transient HIV type-1 viraemia and treatment interruptions during suppressive antiretroviral treatment. *Antivir Ther*. 2010;15(4):555-62.
  136. Suresh DR, Annam V, Pratibha K, Prasad BVM. Total antioxidant capacity--a novel early bio-chemical marker of oxidative stress in HIV infected individuals. *J Biomed Sci*. 7 de julio de 2009;16:61.
  137. Sandler NG, Wand H, Roque A, Law M, Nason MC, Nixon DE, et al. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *J Infect Dis*. 15 de marzo de 2011;203(6):780-90.
  138. Masiá M, Padilla S, Fernández M, Rodríguez C, Moreno A, Oteo JA, et al. Oxidative Stress Predicts All-Cause Mortality in HIV-Infected Patients. *PloS One*. 2016;11(4):e0153456.
  139. Raffetti E, Donato F, Casari S, Castelnuovo F, Sighinolfi L, Bandera A, et al. Systemic inflammation-based scores and mortality for all causes in HIV-infected patients: a MASTER cohort study. *BMC Infect Dis*. 07 de 2017;17(1):193.
  140. Eastburn A, Scherzer R, Zolopa AR, Benson C, Tracy R, Do T, et al. Association of low level viremia with inflammation and mortality in HIV-infected adults. *PloS One*. 2011;6(11):e26320.
  141. Tien PC, Benson C, Zolopa AR, Sidney S, Osmond D, Grunfeld C. The study of fat redistribution and metabolic change in HIV infection (FRAM): methods, design, and sample characteristics. *Am J Epidemiol*. 1 de mayo de 2006;163(9):860-9.
  142. Reus S, Portilla J, Sánchez-Payá J, Giner L, Francés R, Such J, et al. Low-level HIV viremia is associated with microbial translocation and inflammation. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de febrero de 2013;62(2):129-34.
  143. Hsue PY, Hunt PW, Schnell A, Kalapus SC, Hoh R, Ganz P, et al. Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. *AIDS Lond Engl*. 1 de junio de 2009;23(9):1059-67.
  144. Neuhaus J, Jacobs DR, Baker JV, Calmy A, Duprez D, La Rosa A, et al. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis*. 15 de junio de 2010;201(12):1788-95.

145. Kuller LH, Tracy R, Bellosso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* 21 de octubre de 2008;5(10):e203.
146. Palmer S, Wiegand AP, Maldarelli F, Bazmi H, Mican JM, Polis M, et al. New real-time reverse transcriptase-initiated PCR assay with single-copy sensitivity for human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma. *J Clin Microbiol.* octubre de 2003;41(10):4531-6.
147. Maggiolo F, Callegaro A, Cologni G, Bernardini C, Velenti D, Gregis G, et al. Ultrasensitive assessment of residual low-level HIV viremia in HAART-treated patients and risk of virological failure. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 15 de agosto de 2012;60(5):473-82.
148. Calcagno A, Motta I, Ghisetti V, Lo Re S, Alice T, Marinaro L, et al. HIV-1 Very Low Level Viremia Is Associated with Virological Failure in Highly Active Antiretroviral Treatment-Treated Patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* octubre de 2015;31(10):999-1008.
149. Gandhi RT, Zheng L, Bosch RJ, Chan ES, Margolis DM, Read S, et al. The effect of raltegravir intensification on low-level residual viremia in HIV-infected patients on antiretroviral therapy: a randomized controlled trial. *PLoS Med.* 10 de agosto de 2010;7(8).
150. Maldarelli F, Palmer S, King MS, Wiegand A, Polis MA, Mican J, et al. ART suppresses plasma HIV-1 RNA to a stable set point predicted by pretherapy viremia. *PLoS Pathog.* abril de 2007;3(4):e46.
151. Palmer S, Maldarelli F, Wiegand A, Bernstein B, Hanna GJ, Brun SC, et al. Low-level viremia persists for at least 7 years in patients on suppressive antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 de marzo de 2008;105(10):3879-84.
152. Havlir DV, Koelsch KK, Strain MC, Margot N, Lu B, Ignacio CC, et al. Predictors of residual viremia in HIV-infected patients successfully treated with efavirenz and lamivudine plus either tenofovir or stavudine. *J Infect Dis.* 1 de abril de 2005;191(7):1164-8.
153. Doyle T, Smith C, Vitiello P, Cambiano V, Johnson M, Owen A, et al. Plasma HIV-1 RNA detection below 50 copies/ml and risk of virologic rebound in patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 de

marzo de 2012;54(5):724-32.

154. Widdrington J, Payne B, Medhi M, Valappil M, Schmid ML. The significance of very low-level viraemia detected by sensitive viral load assays in HIV infected patients on HAART. *J Infect.* enero de 2011;62(1):87-92.
155. Henrich TJ, Wood BR, Kuritzkes DR. Increased risk of virologic rebound in patients on antiviral therapy with a detectable HIV load <48 copies/mL. *PloS One.* 2012;7(11):e50065.
156. Leierer G, Grabmeier-Pfistershammer K, Steuer A, Sarcletti M, Geit M, Haas B, et al. A Single Quantifiable Viral Load Is Predictive of Virological Failure in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Infected Patients on Combination Antiretroviral Therapy: The Austrian HIV Cohort Study. *Open Forum Infect Dis.* abril de 2016;3(2):ofw089.
157. Teira R, Vidal F, Muñoz-Sánchez P, Geijo P, Viciano P, Ribera E, et al. Very low level viraemia and risk of virological failure in treated HIV-1-infected patients. *HIV Med.* marzo de 2017;18(3):196-203.
158. Helou E, Sheno S, Kyriakides T, Landry M-L, Kozal M, Barakat LA. Characterizing Patients with Very-Low-Level HIV Viremia: A Community-Based Study. *J Int Assoc Provid AIDS Care.* junio de 2017;16(3):261-6.
159. Tien PC, Choi AI, Zolopa AR, Benson C, Tracy R, Scherzer R, et al. Inflammation and mortality in HIV-infected adults: analysis of the FRAM study cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr 1999.* noviembre de 2010;55(3):316-22.
160. Paiardini M, Müller-Trutwin M. HIV-associated chronic immune activation. *Immunol Rev.* julio de 2013;254(1):78-101.
161. Duprez DA, Neuhaus J, Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, et al. Inflammation, coagulation and cardiovascular disease in HIV-infected individuals. *PloS One.* 2012;7(9):e44454.
162. Nordell AD, McKenna M, Borges ÁH, Duprez D, Neuhaus J, Neaton JD, et al. Severity of cardiovascular disease outcomes among patients with HIV is related to markers of inflammation and coagulation. *J Am Heart Assoc.* 28 de mayo de 2014;3(3):e000844.
163. Mavigner M, Delobel P, Cazabat M, Dubois M, L'faqihi-Olive F-E, Raymond S, et al.

HIV-1 residual viremia correlates with persistent T-cell activation in poor immunological responders to combination antiretroviral therapy. *PloS One*. 30 de octubre de 2009;4(10):e7658.

164. Saison J, Ferry T, Demaret J, Maucort-Boulch D, Venet F, Perpoint T, et al. Relationship between discordant response to HAART, Tregs, immune activation and low-level viraemia. *J Int AIDS Soc*. 2014;17(4 Suppl 3):19672.
165. Sklar PA, Ward DJ, Baker RK, Wood KC, Gafoor Z, Alzola CF, et al. Prevalence and clinical correlates of HIV viremia ('blips') in patients with previous suppression below the limits of quantification. *AIDS Lond Engl*. 18 de octubre de 2002;16(15):2035-41.
166. Ryscavage P, Kelly S, Li JZ, Harrigan PR, Taiwo B. Significance and clinical management of persistent low-level viremia and very-low-level viremia in HIV-1-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother*. julio de 2014;58(7):3585-98.
167. Grennan JT, Loutfy MR, Su D, Harrigan PR, Cooper C, Klein M, et al. Magnitude of virologic blips is associated with a higher risk for virologic rebound in HIV-infected individuals: a recurrent events analysis. *J Infect Dis*. 15 de abril de 2012;205(8):1230-8.
168. Nettles RE, Kieffer TL, Kwon P, Monie D, Han Y, Parsons T, et al. Intermittent HIV-1 viremia (Blips) and drug resistance in patients receiving HAART. *JAMA*. 16 de febrero de 2005;293(7):817-29.
169. Smit E, Bhattacharya S, Osman H, Taylor S. Increased frequency of HIV-1 viral load blip rate observed after switching from Roche Cobas Amplicor to Cobas Taqman assay. *J Acquir Immune Defic Syndr 1999*. 1 de julio de 2009;51(3):364-5.
170. Lima V, Harrigan R, Montaner JSG. Increased reporting of detectable plasma HIV-1 RNA levels at the critical threshold of 50 copies per milliliter with the Taqman assay in comparison to the Amplicor assay. *J Acquir Immune Defic Syndr 1999*. 1 de mayo de 2009;51(1):3-6.
171. Sungkanuparph S, Overton ET, Seyfried W, Groger RK, Fraser VJ, Powderly WG. Intermittent episodes of detectable HIV viremia in patients receiving nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor-based or protease inhibitor-based highly active antiretroviral therapy regimens are equivalent in incidence and prognosis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 de noviembre de 2005;41(9):1326-32.
172. Mira JA, Macías J, Nogales C, Fernández-Rivera J, García-García JA, Ramos A, et al.

- Transient rebounds of low-level viraemia among HIV-infected patients under HAART are not associated with virological or immunological failure. *Antivir Ther.* diciembre de 2002;7(4):251-6.
173. Martinez V, Marcelin A-G, Morini J-P, Deleuze J, Krivine A, Gorin I, et al. HIV-1 intermittent viraemia in patients treated by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based regimen. *AIDS Lond Engl.* 1 de julio de 2005;19(10):1065-9.
  174. Pernas B, Grandal M, Pertega S, Cañizares A, Castro-Iglesias Á, Mena Á, et al. Any impact of blips and low-level viraemia episodes among HIV-infected patients with sustained virological suppression on ART? *J Antimicrob Chemother.* abril de 2016;71(4):1051-5.
  175. Masquelier B, Pereira E, Peytavin G, Descamps D, Reynes J, Verdon R, et al. Intermittent viremia during first-line, protease inhibitors-containing therapy: significance and relationship with drug resistance. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* mayo de 2005;33(1):75-8.
  176. Easterbrook PJ, Ives N, Waters A, Mullen J, O'Shea S, Peters B, et al. The natural history and clinical significance of intermittent viraemia in patients with initial viral suppression to < 400 copies/ml. *AIDS Lond Engl.* 26 de julio de 2002;16(11):1521-7.
  177. Cohen Stuart JW, Wensing AM, Kovacs C, Righart M, de Jong D, Kaye S, et al. Transient relapses («blips») of plasma HIV RNA levels during HAART are associated with drug resistance. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de octubre de 2001;28(2):105-13.
  178. d'Ettorre G, Paiardini M, Ceccarelli G, Silvestri G, Vullo V. HIV-associated immune activation: from bench to bedside. *AIDS Res Hum Retroviruses.* abril de 2011;27(4):355-64.
  179. Sarmati L, D'Ettorre G, Parisi SG, Andreoni M. HIV Replication at Low Copy Number and its Correlation with the HIV Reservoir: A Clinical Perspective. *Curr HIV Res.* 2015;13(3):250-7.
  180. Zheng L, Taiwo B, Gandhi RT, Hunt PW, Collier AC, Flexner C, et al. Factors associated with CD8+ T-cell activation in HIV-1-infected patients on long-term antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de octubre de 2014;67(2):153-60.
  181. Poizot-Martin I, Faucher O, Obry-Roguet V, Nicolino-Brunet C, Ronot-Bregigeon S,

- Dignat-George F, et al. Lack of correlation between the size of HIV proviral DNA reservoir and the level of immune activation in HIV-infected patients with a sustained undetectable HIV viral load for 10 years. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. agosto de 2013;57(4):351-5.
182. Schuler PJ, Macatangay BJC, Saze Z, Jackson EK, Riddler SA, Buchanan WG, et al. CD4<sup>+</sup>CD73<sup>+</sup> T cells are associated with lower T-cell activation and C reactive protein levels and are depleted in HIV-1 infection regardless of viral suppression. *AIDS Lond Engl*. 19 de junio de 2013;27(10):1545-55.
  183. Persaud D, Pierson T, Ruff C, Finzi D, Chadwick KR, Margolick JB, et al. A stable latent reservoir for HIV-1 in resting CD4(+) T lymphocytes in infected children. *J Clin Invest*. abril de 2000;105(7):995-1003.
  184. Hermankova M, Ray SC, Ruff C, Powell-Davis M, Ingersoll R, D'Aquila RT, et al. HIV-1 drug resistance profiles in children and adults with viral load of <50 copies/ml receiving combination therapy. *JAMA*. 11 de julio de 2001;286(2):196-207.
  185. Chun TW, Stuyver L, Mizell SB, Ehler LA, Mican JA, Baseler M, et al. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 25 de noviembre de 1997;94(24):13193-7.
  186. Finzi D, Hermankova M, Pierson T, Carruth LM, Buck C, Chaisson RE, et al. Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science*. 14 de noviembre de 1997;278(5341):1295-300.
  187. Di Mascio M, Markowitz M, Louie M, Hogan C, Hurley A, Chung C, et al. Viral blip dynamics during highly active antiretroviral therapy. *J Virol*. noviembre de 2003;77(22):12165-72.
  188. Di Mascio M, Markowitz M, Louie M, Hurley A, Hogan C, Simon V, et al. Dynamics of intermittent viremia during highly active antiretroviral therapy in patients who initiate therapy during chronic versus acute and early human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*. octubre de 2004;78(19):10566-73.
  189. Lorenzo-Redondo R, Fryer HR, Bedford T, Kim E-Y, Archer J, Pond SLK, et al. Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. *Nature*. 4 de febrero de 2016;530(7588):51-6.
  190. Tobin NH, Learn GH, Holte SE, Wang Y, Melvin AJ, McKernan JL, et al. Evidence that low-level viremias during effective highly active antiretroviral therapy result from

two processes: expression of archival virus and replication of virus. *J Virol.* agosto de 2005;79(15):9625-34.

191. Nightingale S, Geretti AM, Beloukas A, Fisher M, Winston A, Else L, et al. Discordant CSF/plasma HIV-1 RNA in patients with unexplained low-level viraemia. *J Neurovirol.* diciembre de 2016;22(6):852-60.
192. Leierer G, Grabmeier-Pfistershammer K, Steuer A, Geit M, Sarcletti M, Haas B, et al. Factors Associated with Low-Level Viraemia and Virological Failure: Results from the Austrian HIV Cohort Study. *PloS One.* 2015;10(11):e0142923.
193. Li JZ, Gallien S, Ribaud H, Heisey A, Bangsberg DR, Kuritzkes DR. Incomplete adherence to antiretroviral therapy is associated with higher levels of residual HIV-1 viremia. *AIDS Lond Engl.* 14 de enero de 2014;28(2):181-6.
194. Verhofstede C, Van Wanzele F, Reynaerts J, Mangelschots M, Plum J, Fransen K. Viral load assay sensitivity and low level viremia in HAART treated HIV patients. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* abril de 2010;47(4):335-9.
195. Rebeiro PF, Kheshti A, Bebawy SS, Stinnette SE, Erdem H, Tang Y-W, et al. Increased detectability of plasma HIV-1 RNA after introduction of a new assay and altered specimen-processing procedures. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 de noviembre de 2008;47(10):1354-7.
196. Kran A-MB, Jonassen TØ, Sannes M, Jakobsen K, Lind A, Maeland A, et al. Overestimation of human immunodeficiency virus type 1 load caused by the presence of cells in plasma from plasma preparation tubes. *J Clin Microbiol.* julio de 2009;47(7):2170-4.
197. Stosor V, Palella FJ, Berzins B, Till M, Leake A, Chmiel JS, et al. Transient viremia in HIV-infected patients and use of plasma preparation tubes. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 de diciembre de 2005;41(11):1671-4.
198. Widera M, Dirks M, Bleekmann B, Jablonka R, Däumer M, Walter H, et al. HIV-1 persistent viremia is frequently followed by episodes of low-level viremia. *Med Microbiol Immunol (Berl).* junio de 2017;206(3):203-15.
199. Halvas EK, Joseph K, Brandt LD, Botha JC, Sobolewski M, Jacobs JL et al. Nonsuppressible viremia on ART from large cell clones carrying intact proviruses. *CROI Conference 2019 [Internet].* [citado 6 de agosto de 2019]. Disponible en: <http://www.croiconference.org/sessions/nonsuppressible-viremia-art-large-cell->

clones-carrying-intact-proviruses

200. Sobrino-Vegas P, Gutiérrez F, Berenguer J, Labarga P, García F, Alejos-Ferreras B, et al. [The Cohort of the Spanish HIV Research Network (CoRIS) and its associated biobank; organizational issues, main findings and losses to follow-up]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* noviembre de 2011;29(9):645-53.
201. García-Merino I, de Las Cuevas N, Jiménez JL, Gallego J, Gómez C, Prieto C, et al. The Spanish HIV BioBank: a model of cooperative HIV research. *Retrovirology.* 9 de marzo de 2009;6:27.
202. Caro-Murillo AM, Castilla J, Pérez-Hoyos S, Miró JM, Podzamczar D, Rubio R, et al. [Spanish cohort of naïve HIV-infected patients (CoRIS): rationale, organization and initial results]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* enero de 2007;25(1):23-31.
203. Estudio prospectivo de prevalencia de VIH en personas atendidas en una red de centros específicos de VIH/ITS, 2000-2013 [Internet]. [citado 5 de marzo de 2019]. Disponible en: [https://www.mscbs.gob.es/en/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeEPIVIH2000\\_2013.pdf](https://www.mscbs.gob.es/en/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeEPIVIH2000_2013.pdf)
204. Vigilancia epidemiológica del VIH y SIDA en España 2018. Actualización 30 de junio de 2018. Sistema de información sobre nuevos diagnósticos de VIH. Registro Nacional de casos de SIDA [Internet]. [citado 5 de marzo de 2019]. Disponible en: [https://www.mscbs.gob.es/en/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/doc/InformeVIH\\_SIDA\\_2018\\_21112018.pdf](https://www.mscbs.gob.es/en/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/doc/InformeVIH_SIDA_2018_21112018.pdf)
205. Joya C, Won SH, Schofield C, Lalani T, Maves RC, Kronmann K, et al. Persistent Low-Level Viremia while on Antiretroviral Therapy is an Independent Risk Factor for Virologic Failure. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 16 de febrero de 2019;
206. Kanapathipillai R, McManus H, Kamarulzaman A, Lim PL, Templeton DJ, Law M, et al. The significance of HIV «blips» in resource-limited settings: is it the same? analysis of the treat Asia HIV Observational Database (TAHOD) and the Australian HIV Observational Database (AHOD). *PloS One.* 2014;9(2):e86122.
207. Teira R, Vidal F, Muñoz-Sánchez P, Geijo P, Viciano P, Ribera E, et al. Very low level viraemia and risk of virological failure in treated HIV-1-infected patients. *HIV Med.* 2017;18(3):196-203.
208. Hughes PJ, Cretton-Scott E, Teague A, Wensel TM. Protease Inhibitors for Patients

- With HIV-1 Infection: A Comparative Overview. *Pharm Ther.* junio de 2011;36(6):332.
209. Youle M. Overview of boosted protease inhibitors in treatment-experienced HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother.* diciembre de 2007;60(6):1195-205.
210. Midde NM, Patters BJ, Rao P, Cory TJ, Kumar S. Investigational protease inhibitors as antiretroviral therapies. *Expert Opin Investig Drugs.* octubre de 2016;25(10):1189-200.
211. Bernal E, Cano A, Gomez JM, Alcaraz A, Muñoz A, Moreno S et al. CoRIS. Impact of antirretroviral treatment on low level viremia in HIV infected patients [Internet]. [citado 27 de julio de 2019]. Disponible en: <https://programme.aids2018.org//PAGMaterial/eposters/11049.pdf>
212. Bangsberg DR, Ragland K, Monk A, Deeks SG. A single tablet regimen is associated with higher adherence and viral suppression than multiple tablet regimens in HIV+ homeless and marginally housed people. *AIDS.* 27 de noviembre de 2010;24(18):2835-40.
213. Dejesus E, Young B, Morales-Ramirez JO, Sloan L, Ward DJ, Flaherty JF, et al. Simplification of antiretroviral therapy to a single-tablet regimen consisting of efavirenz, emtricitabine, and tenofovir disoproxil fumarate versus unmodified antiretroviral therapy in virologically suppressed HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de junio de 2009;51(2):163-74.
214. Nachega JB, Parienti J-J, Uthman OA, Gross R, Dowdy DW, Sax PE, et al. Lower pill burden and once-daily antiretroviral treatment regimens for HIV infection: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* mayo de 2014;58(9):1297-307.
215. Zheng L, Bosch RJ, Chan ES, Read S, Kearney M, Margolis DM, et al. Predictors of residual viraemia in patients on long-term suppressive antiretroviral therapy. *Antivir Ther.* 2013;18(1):39-43.
216. Moore AL, Kirk O, Johnson AM, Katlama C, Blaxhult A, Dietrich M, et al. Virologic, immunologic, and clinical response to highly active antiretroviral therapy: the gender issue revisited. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de abril de 2003;32(4):452-61.
217. Moore AL, Mocroft A, Madge S, Devereux H, Wilson D, Phillips AN, et al. Gender differences in virologic response to treatment in an HIV-positive population: a cohort

- study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de febrero de 2001;26(2):159-63.
218. Turner BJ, Laine C, Cosler L, Hauck WW. Relationship of gender, depression, and health care delivery with antiretroviral adherence in HIV-infected drug users. *J Gen Intern Med*. 1 de abril de 2003;18(4):248-57.
219. Kuyper LM, Wood E, Montaner JSG, Yip B, O'connell JM, Hogg RS. Gender differences in HIV-1 RNA rebound attributed to incomplete antiretroviral adherence among HIV-Infected patients in a population-based cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 1 de diciembre de 2004;37(4):1470-6.
220. SMART Study Group, El-Sadr WM, Grund B, Neuhaus J, Babiker A, Cohen CJ, et al. Risk for opportunistic disease and death after reinitiating continuous antiretroviral therapy in patients with HIV previously receiving episodic therapy: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2 de septiembre de 2008;149(5):289-99.
221. Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, Lundgren JD, Babiker A, El-Sadr W, Emery S, Grund B, et al. Inferior clinical outcome of the CD4+ cell count-guided antiretroviral treatment interruption strategy in the SMART study: role of CD4+ Cell counts and HIV RNA levels during follow-up. *J Infect Dis*. 15 de abril de 2008;197(8):1145-55.
222. Tarwater PM, Gallant JE, Mellors JW, Gore ME, Phair JP, Detels R, et al. Prognostic value of plasma HIV RNA among highly active antiretroviral therapy users. *AIDS Lond Engl*. 3 de diciembre de 2004;18(18):2419-23.
223. Alejos B, Hernando V, Iribarren J, Gonzalez-García J, Hernando A, Santos J, et al. Overall and cause-specific excess mortality in HIV-positive persons compared with the general population: Role of HCV coinfection. *Medicine (Baltimore)*. septiembre de 2016;95(36):e4727.
224. Esber A, Polyak C, Kiweewa F, Maswai J, Owuoth J, Maganga L, et al. Persistent low level viremia predicts subsequent virologic failure. Is it time to change the 3rd 90? *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 20 de noviembre de 2018;
225. Bastard J-P, Soulié C, Fellahi S, Haïm-Boukobza S, Simon A, Katlama C, et al. Circulating interleukin-6 levels correlate with residual HIV viraemia and markers of immune dysfunction in treatment-controlled HIV-infected patients. *Antivir Ther*. 2012;17(5):915-9.
226. Hunt PW. HIV and inflammation: mechanisms and consequences. *Curr HIV/AIDS*

- Rep. junio de 2012;9(2):139-47.
227. Hsue PY, Deeks SG, Hunt PW. Immunologic basis of cardiovascular disease in HIV-infected adults. *J Infect Dis.* junio de 2012;205 Suppl 3:S375-382.
  228. Mugavero MJ, Napravnik S, Cole SR, Eron JJ, Lau B, Crane HM, et al. Viremia copy-years predicts mortality among treatment-naive HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* noviembre de 2011;53(9):927-35.
  229. Li JZ, Gallien S, Do TD, Martin JN, Deeks S, Kuritzkes DR, et al. Prevalence and significance of HIV-1 drug resistance mutations among patients on antiretroviral therapy with detectable low-level viremia. *Antimicrob Agents Chemother.* noviembre de 2012;56(11):5998-6000.
  230. Snapinn SM, Jiang Q, Iglewicz B. Illustrating the Impact of a Time-Varying Covariate With an Extended Kaplan-Meier Estimator. *Am Stat.* 2005;59:301-7.
  231. Bernal E, Gómez JM, Jarrín I, Cano A, Muñoz A, Alcaraz A, et al. Low-Level Viremia Is Associated With Clinical Progression in HIV-Infected Patients Receiving Antiretroviral Treatment. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 01 de 2018;78(3):329-37.
  232. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Recomm Rep Morb Mortal Wkly Rep Recomm Rep.* 18 de diciembre de 1992;41(RR-17):1-19.
  233. Masiá M, Padilla S, Fernández M, Barber X, Moreno S, Iribarren JA, et al. Contribution of Oxidative Stress to Non-AIDS Events in HIV-Infected Patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 01 de 2017;75(2):e36-44.



